

**DANIEL ZENI RISPOLI**

**CORTICÓIDE INTRACORDAL: EFEITO NA CICATRIZAÇÃO DA PREGA  
VOCAL APÓS EXÉRESE DE FRAGMENTO DE MUCOSA COM *LASER* DE  
CO<sub>2</sub> EM SUÍNOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências de Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de Mestre.

**Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos**

**Coordenador: Prof. Dr. Jorge Eduardo F. Matias**

**CURITIBA  
2006**

RISPOLI, Daniel Zeni

Corticóide intracordal: efeito na cicatrização da prega vocal após exérese de fragmento de mucosa com *laser* de CO<sub>2</sub> em suínos. Curitiba, 2006. xii, 73 f.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências de Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de Mestre.

1. Dexametasona 2. Cicatrização de feridas 3. Prega vocal. 4. Cirurgia a Laser. I. Título.

Dedicatória

Aos meus filhos *Larissa* e *Lucas*, razão maior do meu esforço.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que com sua colaboração me entusiasmaram e motivaram a iniciar e concluir esta nova fase de minha vida acadêmica, em especial:

À Universidade Federal do Paraná, pela disponibilidade.

Ao Professor Dr. *Antônio Carlos L. Campos*, estimado orientador e amigo pela sua paciência e inestimável colaboração científica.

Ao Professor Dr. *Jorge Eduardo F. Matias* pela oportunidade.

Ao Dr. *Paulo A. M. Camargo*, amigo de longa data, não só por este trabalho, senão por tudo.

Ao Dr. *Vinícius Fonseca*, pela ajuda e incentivo.

Ao Dr. *Paulo Eduardo Przysiezny*, sem o qual este trabalho não seria realizado.

A todos, a palavra de gratidão.

*“Que o homem de Deus seja apto e plenamente preparado para toda boa obra”*

*(2 TM 3.17)*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS .....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
1.1 Objetivos .....	03
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>04</b>
2.1 Embriologia da laringe .....	04
2.2 Anatomia da laringe .....	05
2.2.1 Cartilagens laríngeas .....	06
2.2.1.1 Cartilagem tireóide .....	06
2.2.1.2 Cartilagem cricóide .....	07
2.2.1.3 Cartilagem epiglote .....	07
2.2.1.4 Cartilagens aritenóides .....	08
2.2.1.5 Cartilagens corniculadas .....	08
2.2.1.6 Cartilagens cuneiformes .....	08
2.2.2 Músculos, inervação e irrigação da laringe .....	09
2.2.3 Ádito e cavidade da laringe .....	11
2.2.4 Compartimentos laríngeos .....	11
2.2.4.1 Andar supraglótico .....	11
2.2.4.2 Andar glótico .....	11
2.2.4.3 Andar subglótico ou infra-glótico .....	12
2.2.5 Anátomo-histologia da prega vocal .....	13
2.3 Função fonatória da laringe .....	17
2.4 Reparação tecidual .....	20
2.4.1 Classificação dos processos biológicos da reparação tecidual .....	21
2.4.1.1 Fase inflamatória ou exsudativa .....	21
2.4.1.2 Fase proliferativa ou fibroblástica .....	22
2.4.1.3 Fase de maturação ou remodelação .....	23
2.5 Importância do colágeno na reparação de feridas .....	24
2.6 Fisiopatologia da cicatrização na prega vocal .....	26
2.7 Coloração de <i>Picrosirius red</i> .....	27
2.8 <i>Laser</i> na cirurgia da laringe .....	29
2.9 Uso de corticóide em pregas vocais .....	31

<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b>	34
3.1	Tipo de estudo	34
3.2	Amostra	34
3.3	Delineamento do experimento	35
3.4	Albergamento dos animais	35
3.5	Anestesia	36
3.6	Procedimento cirúrgico	37
3.6.1	Posicionamento	37
3.6.2	Introdução do laringoscópio	38
3.6.3	Observação das pregas vocais e material áudio-visual	39
3.6.4	Aplicação de solução intracordal	41
3.6.5	Excisão de fragmento de mucosa e prega vocal esquerda c/ <i>laser</i> de CO <sub>2</sub>	41
3.7	Sacrifício	42
3.8	Remoção da laringe e análise macroscópica	42
3.9	Preparo das amostras para análise histológica	46
3.10	Análise histológica quantitativa morfométrica	48
3.11	Análise estatística	52
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	53
4.1	Presença de sinéquias	53
4.2	Espessura da submucosa	53
4.3	Quantificação da deposição do colágeno	53
4.4	Análise estatística	56
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	57
5.1	Escolha do modelo experimental	57
5.2	FonOMICROCirurgia laríngea à <i>laser</i> de CO <sub>2</sub>	58
5.3	Método de coloração e quantificação da deposição do colágeno	59
5.4	Uso de corticóide em PV	60
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	61
	<b>REFERÊNCIAS</b>	62
	<b>DOCUMENTOS CONSULTADOS</b>	69
	<b>ANEXO</b>	70

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	SECÇÃO FRONTAL DE CORTE LARÍNGEO, DEMONSTRANDO COMPARTIMENTOS LARÍNGEOS E ESTRUTURAS HISTOLÓGICAS LARÍNGEAS .....	12
FIGURA 2	ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DA PREGA VOCAL. TEORIA DA “COBERTURA E CORPO” .....	17
FIGURA 3	REPRESENTAÇÃO DAS PRINCIPAIS FORÇAS QUE DETERMINAM A VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCALIS .....	18
FIGURA 4	CICLO VIBRATÓRIO NORMAL .....	19
FIGURA 5	LÂMINA CORADA COM <i>PICROSIRIUS RED</i> . À ESQUERDA SEM POLARIZAÇÃO E À DIREITA COM LUZ POLARIZADA, ONDE SE OBSERVA COLÁGENO TIPO I (AMARELO BRILHANTE) E TIPO III (AMARELO-ESVERDEADO) .....	28
FIGURA 6	SUÍNOS <i>LARGER WHITE</i> NO LOCAL DE ALBERGAMENTO .....	36
FIGURA 7	POSIÇÃO CIRÚRGICA .....	37
FIGURA 8	LARINGOSCÓPIO INFANTIL COM ANGULAÇÃO ANTERIOR .....	38
FIGURA 9	LARINGOSCÓPIO POSICIONADO E SUSPENSO POR UM AUXILIAR ...	39
FIGURA 10	MICROSCÓPIO CIRÚRGICO COM <i>LASER</i> DE CO <sub>2</sub> ACOPLADO .....	40
FIGURA 11	EQUIPAMENTO DE CAPTAÇÃO E REPRODUÇÃO DE IMAGEM .....	40
FIGURA 12	INJEÇÃO DE CORTICÓIDE LOCAL EM PREGA VOCAL .....	41
FIGURA 13	PREENSÃO DO BORDO LIVRE DE PREGA VOCAL ESQUERDA COM PINÇA DE <i>BOUCHAYER</i> DO TIPO CORAÇÃO .....	42
FIGURA 14	LARINGE DO PORCO RETIRADA POR INTEIRO DA BASE DA LÍNGUA AO QUARTO ANEL TRAQUEAL .....	43
FIGURA 15	INCISÃO MEDIANA VENTRAL NA LARINGE .....	44
FIGURA 16	VISIBILIZAÇÃO DA GLOTE SUÍNA APÓS A ABERTURA VENTRAL DA LARINGE E ANÁLISE MACROSCÓPICA DE PRESENÇA OU AUSÊNCIAS DE SINÉQUIAS .....	45
FIGURA 17	RETIRADA DE FRAGMENTO MUCOSO DO TERÇO ANTERIOR DA PREGA VOCAL ESQUERDA .....	46
FIGURA 18	LÂMINA CORADA PELO <i>PICROSIRIUS RED</i> ANTES DA POLARIZAÇÃO .....	47
FIGURA 19	LÂMINA CORADA PELO <i>PICROSIRIUS RED</i> DEMONSTRANDO O TECIDO CONJUNTIVO DA SUBMUCOSA ANTES DA POLARIZAÇÃO .	48
FIGURA 20	EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS .....	49
FIGURA 21	DIGITALIZAÇÃO DE LÂMINA CORADA POR <i>PICROSIRIUS RED</i> ANTES DA POLARIZAÇÃO .....	50
FIGURA 22	LÂMINA CORADA PELO <i>PICROSIRIUS RED</i> APÓS A POLARIZAÇÃO .	51
FIGURA 23	TRANSPORTE DOS DADOS DA SOMATÓRIA DA ÁREA POLARIZADA PARA A PLANILHA DO PROGRAMA <i>EXCEL WINDOWS®</i> .....	52



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	MÚSCULOS INTRÍNSECOS DA LARINGE .....	09
TABELA 2	TIPOS E SUBTIPOS DO COLÁGENO DE ACORDO COM A ESTRUTURA DA HÉLICE DOMINANTE E COM O SEU TAMANHO MOLECULAR .....	25
TABELA 3	DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO .....	35
TABELA 4	MÉDIA DA ESPESSURA DA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA .....	53
TABELA 5	ÁREA DE COLÁGENO TOTAL NA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA EM CADA ANIMAL .....	54
TABELA 6	MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO E MÁXIMO DA ÁREA DE COLÁGENO TOTAL NA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA .....	54

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	COMPARAÇÃO DA MÉDIA DO COLÁGENO TOTAL ENTRE GE E GC .....	55
GRÁFICO 2	MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS DO COLÁGENO TOTAL DE ACORDO COM O GRUPO DO ESTUDO, DEMONSTRANDO DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE .....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS

CAP: músculo cricoaritenóideo posteriore

CT: músculo cricotireóideo

GC: grupo controle

GE: grupo experimento

IM: intramuscular

IV: intra-venoso

*Laser: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*

LP: lâmina própria

MB: membrana basal

N.: nervo

NLI: nervo laríngeo inferior (recorrente)

NLS: nervo laríngeo superior

PV: prega vocal

PVs: pregas vocais

TA: músculo tireoaritenóideo

UFPR: Universidade Federal do Paraná

VHS: *video home system*

## LISTA DE SÍMBOLOS

C: *Celsius*

CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono

n: número

G: Gauge

°: graus

Kg: kilograma

®: marca registrada

m: metro

µm: micrômetro

µm<sup>2</sup>: micrômetro quadrado

mg/Kg: miligrama por kilograma

mg/ml: miligrama por mililitro

ml: mililitro

mm: milímetro

ms: milisegundo

nm: nanômetro

ρ: nível de significância

%: porcentagem

pH: potencial hidrogenado

W: *Watts*

## RESUMO

### DEXAMETASONA INTRACORDAL: EFEITO NA CICATRIZAÇÃO DA PREGA VOCAL APÓS EXÉRESE DE FRAGMENTO DE MUCOSA COM LASER DE CO<sub>2</sub> EM SUÍNOS

**Introdução:** os corticóides têm sido utilizados nas microcirurgias laríngeas na tentativa de reduzir o processo cicatricial. **Objetivo:** avaliar o efeito da aplicação de corticóide intracordal (Fosfato Dissódico de Dexametasona) após ressecção à *laser* de CO<sub>2</sub> de fragmento de mucosa de bordo livre de prega vocal (PV), em suínos, em relação a grupo controle, considerando aspectos de macroscopia (presença de sinéquias) e microscopia (fibroplasia na submucosa de prega vocal). **Material e Método:** foram utilizados 12 porcos da raça *Larger White* anestesiados e submetidos a exérese à *laser* de CO<sub>2</sub> de fragmento de mucosa de terço anterior de bordo livre da PV esquerda. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo controle, animais submetidos à exérese à *laser*, com aplicação intracordal prévia de 0,2 ml de solução salina. Grupo experimento, animais submetidos à exérese à *laser*, com aplicação intracordal prévia de 0,2 ml de dexametasona 10 mg/ml. Após 30 dias, os animais foram mortos, sendo coletado amostras das PVs, as quais foram coradas pela técnica do *Picrosirius Red* com polarização para a quantificação computadorizada da deposição do colágeno total. **Resultados:** não foram observada macroscopicamente a presença de sinéquias no terço anterior das PVs pós-cirúrgicas. No grupo controle a média da área do colágeno depositado na submucosa das PVs esquerdas foi de 2496,36  $\mu\text{m}^2 \pm 123,20$  e no grupo experimento a média foi de 2167,92  $\mu\text{m}^2 \pm 159,39$  ( $p=0,0043$ ). **Conclusões:** a aplicação intracordal de dexametasona previamente à exérese de fragmento de mucosa da PV a *laser* de CO<sub>2</sub> em suínos diminui, significativamente, a deposição do colágeno total, e não se associa à formação de sinéquias pós-cirúrgicas, quando avaliada 30 dias após o procedimento.

Palavras-chave: 1.Dexametasona; 2. Cicatrização de feridas; 3. Prega vocal; 4. Cirurgia a Laser

## ABSTRACT

### INTRACORDAL DEXAMETHASONE: EFFECT ON VOCAL FOLD SCARRING AFTER MUCOSAL FRAGMENT EXERESIS WITH CO<sub>2</sub> LASER IN SWINES

**Introduction:** the corticosteroids have been used in laryngeal microsurgery as an attempt to reduce scarring. **Objective:** to evaluate the effect of the use of intracordal corticosteroids (dexamethasone sodium phosphate) after CO<sub>2</sub> laser resection of a mucosal fragment from the free edge of the vocal fold, in swine, compared to controls, considering macroscopical (development of synechia) and microscopical (fibroplasia in the vocal fold submucosa) aspects. **Material and Methods:** 12 pigs of the *Larger White* breed were anesthetized and submitted to exeresis of a mucosal fragment from the anterior third of the free edge of the left vocal fold with CO<sub>2</sub> laser after the injection of dexamethasone or placebo. The animals were divided into two groups: the control group, with previous intracordal injection of 0,2 ml of saline solution, and the study group, with previous intracordal injection of 0,2 ml of dexamethasone 10mg/ml. After 30 days, the animals were sacrificed, and samples from the vocal fold were taken. The sections were stained with Picrosirius Red and observed with polarized microscopy for the quantification of total collagen deposition. **Results:** it was not observed synechia formation on the anterior third of the vocal folds macroscopically. In the control group the average area of collagen deposition on the submucosa of the left vocal folds was  $2496,36 \mu\text{m}^2 \pm 123,20$ , and in the study group the average was  $2167,92 \mu\text{m}^2 \pm 159,39$  ( $p=0,0043$ ). **Conclusions:** the use of intracordal dexamethasone before exeresis of a mucosal fragment with CO<sub>2</sub> laser reduces, significantly, the total collagen deposition and it is not associated with synechia formation when evaluated 30 days after the procedure.

Key-words: 1. Dexamethasone; 2. Wound healing; 3. Vocal fold; 4. Laser surgery.

## 1 INTRODUÇÃO

A linguagem é a principal característica que difere os homens dos outros animais, tornando-o único e ajudando-o a construir sua própria história e deixar marcada sua evolução (CAPRA, 1995). A voz humana é a função que possibilita a exteriorização da linguagem, permitindo a comunicação inter-pessoal e favorecendo as trocas lingüísticas que ampliam os conceitos culturais e aprimoram o pensamento universal. Interferem na sua produção fatores sócio-culturais, emocionais, perceptivos e anátomo-fisiológicos, os quais são passíveis de alterações, podendo originar disfonias (RIBEIRO et al., 2004).

A melhor compreensão da fisiologia laríngea, em especial da região glótica, levou ao desenvolvimento de técnicas cirúrgicas mais conservadoras, que permitem preservar e/ou restaurar as características vibratórias das pregas vocais (PVs) (HIRANO, 1991; COUREY et al., 1995; GARRET et al., 2001). O aprimoramento técnico da fonomicrocirurgia surgiu concomitante com a melhora da visibilização laríngea, em particular com o emprego do microscópio cirúrgico, e mais recentemente da vídeo-endoscopia (THOMÉ, 1974; ZEITELS, 2000; CAMPOS, 2000; CAMARGO et al., 2006).

O refinamento técnico cirúrgico apresentou à laringologia, no início da década de 70, o *laser*, o qual hoje é amplamente difundido na prática cirúrgica laríngea (STRONG; JAKO, 1972; MORGADO et al., 2002). O *laser* mais comumente utilizado em cirurgia da laringe é o de CO<sub>2</sub> (SANTOS et al., 2003), tornado popular após os relatos de STRONG e JAKO (1972). O *laser* de CO<sub>2</sub> concentra a energia em um ponto mais localizado na área irradiada, melhorando a precisão, o que determina melhor resultado anátomo-funcional no pós-operatório.

Um *laser* que ofereça a vantagem de menor dano termal nos tecidos adjacentes e que esteja associado a fatores locais que proporcionem melhor cicatrização seria

ideal para os procedimentos microcirúrgicos endolaríngenos (GARRET et al., 2001). No entanto, o resultado inevitável de qualquer incisão cirúrgica é a possibilidade de formação de tecido cicatricial, o qual permanece sendo fonte potencial de problema para o fonocirurgião na busca da qualidade vocal (ELIASHAR et al., 1999; CAMARGO et al., 2006).

Terapias adjuvantes tais como corticoesteróides tópicos, mitomicina tópica, resfriamento prévio, cola de fibrina, dentre outros, têm sido sugeridos como moduladores do processo cicatricial na cobertura mucosa da prega vocal (PV) após o procedimento fonocirúrgico (SHEPPARD et al., 1992, ABITBOL, 1995; BOUCHAYER; CORNUT, 1988; GARRET; REINISCH, 2002; CAMARGO et al., 2006).

O uso de corticóides sistêmicos e injetados na PV vem sendo relatado como tratamento adjuvante à cirurgia, a fim de diminuir o processo cicatricial. Os glicocorticóides suprimem tanto a imunidade celular como a humoral, reduzindo o exsudato e diminuindo a formação de mediadores e células inflamatórias (GAUCI; DALE; BALOW, 1976; HUNT, 1986; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

Estudos clínicos realizados por TATEYA et al. (2003 e 2004) avaliaram o corticóide injetado na lâmina própria da PV, e demonstraram o efeito benéfico com melhora da qualidade vocal e diminuição do tempo de fonoterapia em lesões fonotraumáticas, como nódulos vocais e edema de *Reinke*. BOUCHAYER e CORNUT (1988) relataram melhora no fechamento glótico e qualidade vocal após a realização de injeção de corticóide seguido imediatamente do *microflap* em PVs. ALENCAR (2005), no entanto, não encontrou diferença estatisticamente significativa em estudo experimental envolvendo o uso intracordal de fosfato dissódico de dexametasona previamente ao procedimento cirúrgico a frio do tipo *microflap* laríngeo, em relação ao grupo controle sem uso de injeção intracordal prévia.

Em relação ao uso de *laser* de CO<sub>2</sub> em cirurgias de PVs associado com corticoterapia intracordal prévia, a literatura é bastante escassa, sendo importante avaliar o uso concomitante desses dois procedimentos na busca da otimização dos resultados funcionais nas cirurgias endolaríngenas.

## 1.1 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da aplicação de corticóide intracordal (Fosfato Dissódico de Dexametasona) após ressecção à *laser* de CO<sub>2</sub> de fragmento de mucosa de bordo livre de PV em suínos, em relação a grupo controle, considerando aspectos de macroscopia (presença de sinéquias) e microscopia (fibroplasia na submucosa de prega vocal).



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Embriologia da laringe (MARTINS, 2003)

*Hollinger* divide o desenvolvimento laríngeo em oito fases:

FASE I – Aproximadamente na 3ª semana gestacional surge o primeiro sinal do sistema respiratório, correspondente a um espessamento epitelial ao longo do aspecto ventral do intestino primitivo, chamado de *primórdio respiratório* (separado do primórdio hepático pelo septo transversal).

FASE II – Surge o *divertículo respiratório*, uma evaginação do intestino primitivo em direção ao primórdio respiratório, a partir do assoalho faríngeo primitivo (no adulto corresponde a região glótica). A porção cefálica do divertículo respiratório desenvolve-se em direção a subglote. Na 4ª semana gestacional o divertículo respiratório dá origem a outras duas projeções laterais (*brotos broncopulmonares*), que evoluirão para o trato respiratório inferior.

FASE III – A parte superior do intestino primitivo e o divertículo respiratório migram superiormente e os brotos broncopulmonares são projetados caudal e inferiormente, dando origem aos *brônquios principais e a carina*. A distância entre o divertículo respiratório e a carina aumenta progressivamente, dando origem a traquéia. A subglote continua a se desenvolver.

FASE IV – Surge a *laringofaringe primitiva* (no adulto corresponde a supraglote) por volta da 5ª semana gestacional, como extensão da quarta bolsa faríngea. Nessa fase surgem também as cartilagens, músculos, nervos e artérias a partir do segundo, terceiro e quarto arcos branquiais.

FASE V – A laringofaringe primitiva é obliterada pela lâmina epitelial, exceto por uma estreita comunicação entre a hipofaringe e a subglote, o *ducto*

*faringoglótico*. Músculos, nervos e cartilagens continuam a se desenvolver. Desenvolve-se o *ceco laríngeo* (depressão entre as cartilagens aritenóide e epiglote).

FASE VI – O ceco laríngeo cresce ao longo do aspecto ventral das aritenóides e desce até o nível da região glótica.

FASE VII – Inicia-se a canalização da lâmina epitelial, dorso-ventralmente e céfalo-caudalmente, com restabelecimento da comunicação entre o ceco laríngeo e o ducto faringoglótico. A última parte a recanalizar é a glote. A lâmina epitelial é a principal indutora da diferenciação do mesênquima branquial em tecido laríngeo.

FASE VIII – Corresponde ao início do período fetal, quando o ventrículo cresce a partir da face ventral do ceco laríngeo. Com a completa recanalização da lâmina epitelial estabelece-se uma comunicação entre supra e subglote.

O epitélio de revestimento laríngeo deriva do endoderma e é inicialmente poliédrico embrionário. Por volta do 3º mês gestacional, esse epitélio espessa-se e recebe os primeiros cílios. No 6º mês já é pavimentoso estratificado, recebendo posteriormente glândulas nas pregas vestibulares, ventrículos e subglote.

Entre o 3º e 5º mês de gestação se completa o desenvolvimento da cartilagem tireóidea (4º arco branquial), cartilagem cricóide (5º arco branquial), osso hióide (3º arco branquial), aritenóides e epiglote.

## 2.2 Anatomia da laringe

A laringe está situada na região cervical anterior mediana, onde se pode facilmente palpar uma proeminência piramidal que pertence à cartilagem tireóide, a qual é denominada proeminência laríngea (CASTRO, 1980). A laringe é um órgão músculo-cartilaginoso, que segue a faringe e precede a traquéia, tendo tríplice função (MARTINS, 2003; PEREIRA, 2006):

- Age como válvula protetora, impedindo a passagem de partículas alimentares na via respiratória e do ar para o esôfago durante a deglutição.
- É via aerífera, conduzindo ar à traquéia e alvéolos para que ocorra a hematose.
- É órgão essencial na formação dos sons (função vocalizadora).

### 2.2.1 Cartilagens laríngeas

Da laringe até os alvéolos pulmonares, as vias aeríferas devem permanecer como tubos constantemente abertos para assegurar a livre passagem de ar, o que se realiza graças à existência de anéis cartilagíneos incompletos. Ao nível da laringe, esses anéis se tornam muito irregulares e as cartilagens que os constituem merecem uma descrição mais acurada (MARTINS, 2003).

As cartilagens da laringe são divididas em ímpares (epiglote, tireóide e cricóide) e pares (aritenóides, corniculadas e cuneiformes). Essas cartilagens são ligadas entre si por ligamentos e articulações, que possibilitam o deslizamento entre elas. Tem-se o ligamento tireo-hióideo lateral, os ligamentos tireoepiglóticos, tireoaritenóideos inferiores e cricoaritenóideos. As articulações são a cricotireoidéia e a cricoaritenoidéia (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003).

A tireóide, cricóide e aritenóide são cartilagens hialinas e podem sofrer calcificações que se iniciam após os vinte anos de idade, sendo as restantes, cartilagens elásticas (CAMARGO; RISPOLI; PEREIRA, 2003).

#### 2.2.1.1 Cartilagem tireóide

Seu nome em grego significa “escudo” (CASTRO, 1980). É a maior das cartilagens laríngeas, mediana e única. Está constituída por duas lâminas divergentes dispostas em “V”, o que lhe confere a forma de escudo e justifica sua etimologia. No ponto de união superior das lâminas, há uma projeção anterior, a proeminência laríngea (pomo de *Adão*), mais acentuada no homem, palpável e visível *in vivo*. As bordas anteriores das lâminas divergem superiormente formando a incisura tireóidea. A borda posterior de cada lâmina prolonga-se superior e inferiormente para constituir o corno superior e inferior, respectivamente. Os cornos inferiores articulam-se com as facetas no arco posterior da cartilagem cricóide, formando a articulação cricotireoidéia, que é sinovial, portanto, sujeita à artrite (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003; PEREIRA, 2006).

As lâminas da cartilagem tireóide possuem um reparo anatômico superficial nos seus três quartos posteriores, a linha oblíqua, que corresponde ao ponto de inserção de vários músculos extrínsecos da laringe: omo-hióideo, esternotireóideo e constritor inferior. Internamente, as lâminas são revestidas por mucopericôndrio, exceto na comissura anterior (porção interna do ângulo). Neste local, tem-se a inserção de duas pregas vestibulares e duas PVs. Nessa região, os ligamentos penetram no pericôndrio, formando uma estrutura denominada ligamento de *Broyle*, que contém vasos sanguíneos e linfáticos, consistindo em um local de disseminação de tumores laríngeos (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003; PEREIRA, 2006).

#### 2.2.1.2 Cartilagem cricóide

Seu nome em grego significa “anel” (CASTRO, 1980). Tem a forma de anel de sinete com o arco mais largo (lâmina) na região posterior. Em cada lado da borda superior da lâmina há uma faceta para a articulação com a aritenóide correspondente (articulação cricoaritenoidéia). Une-se à cartilagem tireóide na linha média pelo ligamento cricotireóideo. Sua borda inferior delimita o término da laringe e o início da traquéia e do esôfago. Situa-se ao nível da sexta vértebra cervical (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003; PEREIRA, 2006).

#### 2.2.1.3 Cartilagem epiglote

Cartilagem única, em forma de folha. Sua porção inferior é intralaríngea, enquanto sua porção superior fica em direção à base da língua. Desempenha uma importante função de proteção do ádito da laringe durante a deglutição. Sua porção inferior ou pecíolo une-se à cartilagem tireóide através do ligamento tireoepiglótico. Na sua porção anterior convergem três pregas mucosas originadas na base da língua, a prega glossoepiglótica mediana e as pregas glossoepiglóticas laterais. A depressão formada a cada lado da prega mediana é denominada valécula. A mucosa da face laríngea prossegue até as cartilagens aritenóides, formando as pregas ariepiglóticas. A

epiglote apresenta depressões nas quais se alojam glândulas e forames, através dos quais passam nervos e vasos sanguíneos (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003; PEREIRA, 2006).

#### 2.2.1.4 Cartilagens aritenóides

Têm a forma de pirâmide, com ápice superior e base inferior. A partir da base têm-se os processos muscular e vocal. Articulam-se com o bordo superior da cartilagem cricóide, em uma junta sinovial. Essa articulação participa mais ativamente das funções de respiração e fonação, através das mudanças na posição das PVs. A principal propriedade mecânica dessa cartilagem é sua massa reduzida, com pequeno momento de inércia, permitindo oscilações de abdução e adução das PVs em intervalos de menos de 0,1 ms durante a articulação das palavras. As pregas ariepiglóticas inserem-se no ápice das aritenóides, com o ligamento vestibular, enquanto as PVs inserem-se na porção medial da base (processo vocal). O processo muscular contém a inserção dos músculos cricoaritenóideos lateral e posterior (PEREIRA, 2006).

#### 2.2.1.5 Cartilagens corniculadas (de *Santorini*)

Articulam-se com o ápice das aritenóides através de uma sindesmose, e têm forma cônica (CASTRO, 1980; MARTINS, 2003).

#### 2.2.1.6 Cartilagens cuneiformes (de *Wrisberg*)

Situam-se na prega ariepiglótica, anteriormente às cartilagens corniculadas, e têm forma de bastonetes (MARTINS, 2003).

### 2.2.2 Músculos, inervação e irrigação da laringe

Identificam-se na laringe dois grupos musculares: extrínsecos e intrínsecos. Os músculos extrínsecos movimentam a laringe como um bloco, exercendo sua ação principalmente por ocasião da deglutição. São presos por uma das extremidades na laringe ou cercanias e podem ser subdivididos em elevadores e abaixadores da laringe (PEARSON, 1994). Entre os elevadores têm-se os músculos supra-hióideos (digástrico, estilo-hióideo, milo-hióideo e genio-hióideo) e os que se relacionam com a faringe (palatofaríngeo, estilofaríngeo e os constritores médio e inferior da faringe). Entre os abaixadores da laringe ressaltam em importância os músculos infra-hióideos (esternohióideo, esternotireóideo e omo-hióideo) (CASTRO, 1980).

Os intrínsecos inserem-se nas cartilagens da laringe e desempenham sua função no sentido da fonação (e acessoriamente também na deglutição), sendo todos pares (exceto o músculo aritenóideo transverso) (CASTRO, 1980). ROSENFELD et al. (1982) analisaram o músculo vocal, através de técnicas histoquímicas, e concluíram que ele se assemelha aos demais músculos estriados esqueléticos do corpo humano, apresentando, no entanto, uma grande especialização para as funções de fonação e proteção das vias aéreas superiores (função de esfíncter), com características morfológicas e metabólicas únicas.

Os nomes dos músculos laríngeos intrínsecos refletem suas origens e inserções (tabela 1) (HUNGRIA, 1995; IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

TABELA 1 – MÚSCULOS INTRÍNSECOS DA LARINGE

<b>Nome do músculo laríngeo</b>	<b>Ação</b>	<b>Inervação</b>
Cricoaritenóideos posteriores (CAP)	Abdutores das PVs	N. laríngeo inferior (recorrente)
Cricoaritenóideos laterais	Adutores das PVs	N. laríngeo inferior (recorrente)
Interaritenóideos (aritenóide transverso)	Adutores das PVs	N. laríngeo inferior (recorrente)
Tireoaritenóideos (TA) – músculo vocal	Tensores das PVs – Constituem as próprias PVs	N. laríngeo inferior (recorrente)
Cricotireóideo (CT)	Principal tensor das PVs	N. laríngeo superior

Legenda: N. = nervo, PVs = pregas vocais

Os músculos adutores e tensores aproximam as PVs e desempenham função fonatória. Os abdutores afastam as PVs e garantem a função respiratória (HUNGRIA, 1995; MARTINS, 2003).

O nervo vago (X par) é o maior dos nervos cranianos, tendo sua origem aparente no sulco lateral posterior da medula oblonga, entre os nervos acessório (XI par) e glossofaríngeo (IX par), sendo que, juntamente com esses, atravessa o forame jugular para se exteriorizar do crânio (MACHADO, 1993). O termo “vago” vem “daquele que vaga”, em razão de seu longo trajeto através do pescoço, tórax e finalmente abdome (SANTORO; BOHADANA; TSUJI, 2003).

No sentido descendente, o nervo vago emite o nervo laríngeo superior (NLS) e mais inferiormente o nervo laríngeo inferior ou recorrente (NLI). O NLS se subdivide em ramos externo (inerva o músculo CT) e interno (inerva a mucosa laríngea supraglótica) (SANTORO; BOHADANA; TSUJI, 2003). O NLI possui um trajeto diferente em relação aos lados direito e esquerdo, sendo que à esquerda passa pelo arco da aorta, e à direita contorna a artéria subclávia direita, o que confere uma extensão maior do NLI esquerdo, 9,4 cm em média, em relação ao direito, 5 cm em média (ARANTES et al., 2004).

A mucosa da laringe é innervada pelo ramo interno do NLS e pelo NLI. O primeiro inerva a mucosa da epiglote até as PVs. O segundo é responsável pela innervação sensitiva inferiormente às PVs. Assim, a rima da glote é a linha divisória entre os territórios de innervação do NLS e do NLI (SANTORO; BOHADANA; TSUJI, 2003).

A laringe é irrigada pelas artérias laríngeas superior e inferior, derivadas respectivamente, das artérias tireóideas superior e inferior. Elas acompanham os NLS (ramo interno) e NLI. As veias acompanham as artérias e drenam para a veia jugular interna (PEARSON, 1994).

A laringe tem uma rica rede linfática drenando para linfonodos contralaterais, sobretudo na supraglote. A exceção fica por conta das PVs, onde praticamente não existem linfáticos (PEARSON, 1994; HUNGRIA, 1995).

### 2.2.3 Ádito e cavidade da laringe

O ádito é a entrada da laringe, encaminhando o ar da laringo-faringe para a cavidade da mesma. Seu limite superior corresponde à borda da epiglote, as pregas ariepiglóticas e, posteriormente, a prega interaritenóide. O fechamento do ádito protege a via respiratória contra a penetração de partículas alimentares e corpos estranhos (PEREIRA, 2006).

*Galeno* usou a palavra grega *glottis* (bocal de flauta), derivada de *glossa* (língua) para denominar a laringe. *Vesálio* usou a palavra para designar a região abrangendo as pregas vestibulares, as PVs e os ventrículos. As PVs estendem-se da cartilagem tireóide ao processo vocal da cartilagem aritenóide e incluem o ligamento e o músculo vocal, revestido pela mucosa. A parte mais anterior da rima da glote, localizada entre as PVs, é sua parte intermembranosa, enquanto que a porção que se situa entre os processos vocais é a parte intercartilaginosa (PEREIRA, 2006).

### 2.2.4 Compartimentos laríngeos

A cavidade laríngea é dividida em três andares (figura 1) (HUNGRIA, 1995):

#### 2.2.4.1 Andar supraglótico

Vai do orifício superior da laringe até as PVs. A superfície interna do andar supraglótico (vestíbulo) apresenta nas suas paredes laterais duas pregas mucosas denominadas falsas cordas vocais, que delimitam com as cordas verdadeiras um espaço, o ventrículo laríngeo ou de *Morgani*.

#### 2.2.4.2 Andar glótico

Constituído pelas PVs que limitam entre si a rima da glote. É a porção da laringe com menor área de secção transversa. A rima da glote está, aproximadamente,

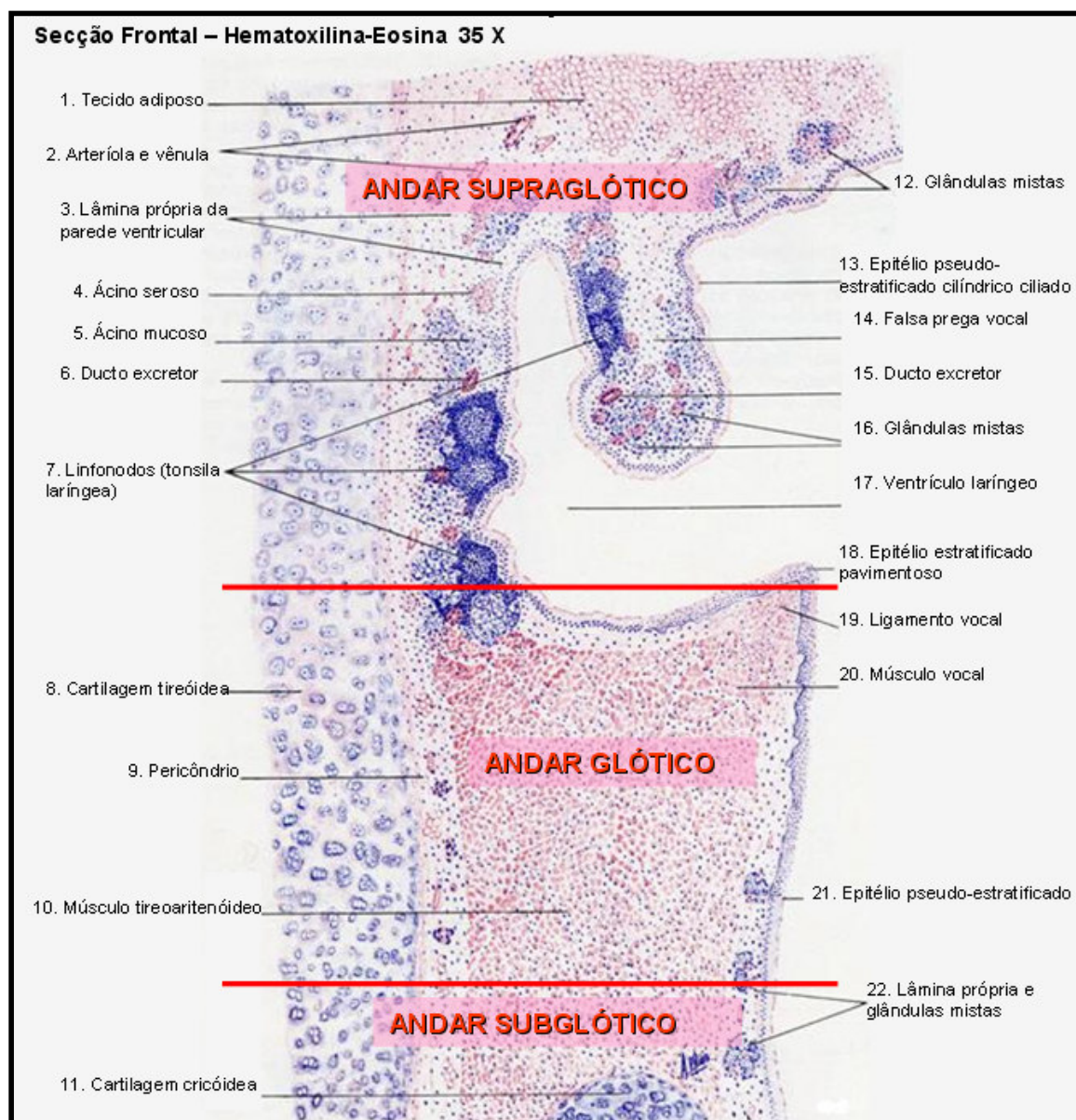


ao nível do ponto médio da cartilagem tireóide. Uma membrana fibroelástica se estende da PV à superfície interna da cricóide denominada cone elástico.

### 2.2.4.3 Andar subglótico ou infra-glótico

Vai desde as PVs até um plano que passa pela borda inferior da cricóide.

FIGURA 1 – SECÇÃO FRONTAL DE CORTE LARÍNGEO, DEMONSTRANDO COMPARTIMENTOS LARÍNGEOS E ESTRUTURAS HISTOLÓGICAS LARÍNGEAS



FONTE: Modificado de DI FIORE; MANCINI; DE ROBERTIS, 1974

### 2.2.5 Anátomo-histologia da prega vocal

Os seres humanos podem emitir sons dentro de uma ampla faixa de frequência e intensidade, com uma grande variedade de qualidades tonais. Para isso, utilizam suas PVs, que possuem características histológicas e estruturais muito bem adaptadas à função de fonação (MELO, 2005).

Do ponto de vista fonatório, a noção mais importante em relação à histologia da PV é a de que ela constitui uma estrutura com múltiplas camadas, com propriedades mecânicas diferentes. Esta estrutura laminar, com cinco camadas histológicas distintas, permite ampla gama de ajustes de frequência e intensidade da voz humana. Desta forma a conotação da PV funcionar como a corda de um instrumento musical é errônea, pois ela não funciona como um vibrador de estrutura única, mas sim como um vibrador de múltiplas camadas diferentes (MELO, 2005).

As PVs são estruturas vibráteis que se localizam no andar glótico da laringe, sendo compostas, fundamentalmente, por mucosa e músculo. A mucosa, por sua vez, é constituída por epitélio e pela camada superficial da lâmina própria (LP) (NEVES; NETO; PONTES, 2004). As camadas intermediária e profunda da LP, constituem a submucosa das PVs (MAAHS et al., 1998).

O epitélio de revestimento do bordo livre da PV é estratificado pavimentoso não queratinizado, enquanto o epitélio próximo ao ventrículo laríngeo ou à subglote é do tipo pseudo-estratificado ciliado, com uma região de transição entre eles (MARTINS, 2003; MELO, 2005). Esse epitélio é considerado como uma fina camada vibratória que mantém as estruturas da PV em seu formato original (HIRANO, 1991).

Uma importante estrutura do epitélio que faz transição com a camada superficial da LP, estando em íntimo contato com esta, é a membrana basal (MB). A MB apresenta pequenos sulcos em toda sua extensão e com isso promove acentuado aumento da área de apoio para as células teciduais (PEREIRA, 2006). A MB é constituída por fina camada de matriz extracelular especializada, sintetizada pelas células epiteliais e fibroblastos da LP, sendo uma estrutura importante para a vibração da mucosa, pois, assim como a LP, promove elasticidade e, ao mesmo tempo,

resistência às PVs (ABRAHAMSON, 1986; LEBLOND; INOUE, 1989; NEVES; NETO; PONTES, 2004).

A MB normal não é observada com detalhes por meio da técnica da hematoxilina-eosina, rotineiramente utilizada na microscopia óptica. Microscopia eletrônica é o melhor meio para estudo desta estrutura. Ultra-estruturalmente a MB consiste de três camadas que são denominadas, da superfície para profundidade, lâmina lúcida (ou *pars rara*), lâmina densa (ou lâmina basal) e lâmina fibro-reticular (ou sub-lâmina densa). Sua principal função é a adesão celular, que é realizada por meio das fibras de ancoragem (ABRAHAMSON, 1986; NEVES; NETO; PONTES, 2004). Estudos demonstram que as fibras de ancoragem conectam a lâmina densa com a camada superficial da LP. As fibras de colágeno tipo III da camada superficial da LP passam através dos "elos" formados pelas fibras de ancoragem, formando uma "corrente" que adere firmemente o epitélio da PV à LP (NEVES; NETO; PONTES, 2004).

Em relação à sua composição química, técnicas de elétron imunohistoquímica demonstraram que a MB é composta, principalmente, por três tipos de macromoléculas: colágeno tipos IV e VII, laminina e proteoglicano heparan sulfato. O colágeno tipo IV é o responsável pela força e elasticidade da MB. O tipo VII é o principal componente das fibras de ancoragem. A laminina e o proteoglicano heparan sulfato estão implicados na adesão celular e no controle da passagem de substâncias através da MB. Fibronectina e entactina são glicoproteínas também encontradas na MB, porém não se sabe ao certo sua função (ABRAHAMSON, 1986; LEBLOND; INOUE, 1989; NEVES; NETO; PONTES, 2004; MELO, 2005).

A LP é a estrutura mais importante da PV, pois é a que mais vibra durante a fonação (MELO et al., 2003). Tem papel fundamental na viscosidade, contratilidade e formação de onda mucosa, sendo que seu bom funcionamento é determinante para o início e manutenção da vibração sustentada pelo fenômeno de *Bernoulli* (VARELA; GRELLET, 2005).

A LP é composta por células (fibroblastos, miofibroblastos e macrófagos) e principalmente por tecido extracelular: fibras elásticas, colágenas (tipo III), elastina,

ácido hialurônico, fibronectina e vasos sangüíneos, podendo ser dividida, de acordo com a distribuição dos componentes fibrosos, em três camadas: superficial, intermediária e profunda. A camada superficial, ou espaço de *Reinke*, apresenta poucos componentes fibrosos (fibras elásticas e colágenas), sendo composta fundamentalmente por substância fundamental amorfa. A camada intermediária é composta por fibras elásticas dispostas simetricamente, enquanto a camada profunda é composta principalmente por fibras colágenas maduras, as quais ajudam na sustentação (GARRETT; COLEMAN; REINISCH, 2000; MARTINS, 2003; NEVES; NETO; PONTES, 2004; MELO, 2005).

A matriz extracelular da camada superficial da LP é composta por fibras protéicas e por proteínas intersticiais. Em humanos, as fibras protéicas distribuem-se paralelamente à borda livre. Dentre elas, as fibras colágenas são as responsáveis pela manutenção da arquitetura local, regulação osmótica e viscosidade. As fibras colágenas tipo I são maiores, melhor visualizadas e mais rígidas, já as do tipo III são mais finas e flexíveis (GARRETT; COLEMAN; REINISCH, 2000; VARELA; GRELLET, 2005).

A porção vibratória, ou parte intermembranácea da glote, apresenta as três camadas da LP conectadas ao rígido esqueleto laríngeo por zonas de transição altamente diferenciadas nas extremidades anterior e posterior da PV: as máculas flavas anterior e posterior. As máculas flavas são continuações da camada intermediária da LP e parecem funcionar como amortecedores nas inserções da PV, levando a uma mudança gradual na resistência da estrutura das cartilagens rígidas para a mucosa flexível. Anteriormente à mácula flava anterior, observa-se uma massa de fibras colágenas, o tendão da comissura anterior, que se insere na cartilagem aritenóidea e se continua posteriormente com a camada profunda da LP (MELO, 2005).

Não se observam glândulas nem vasos sangüíneos calibrosos próximos ao bordo livre da PV. Na camada superficial da LP se observam apenas capilares, enquanto na camada intermediária e profunda encontram-se arteríolas, vênulas, pequenas artérias e veias. Os vasos sangüíneos da mucosa, no bordo livre, originam-se das regiões anterior e posterior da parte intermembranácea da glote, e a partir daí

correm paralelamente ao bordo livre da PV. Alguns poucos vasos penetram na mucosa diretamente do músculo subjacente, sendo todos muito pequenos. Este arranjo vascular ajuda a manter a vibração do tecido (HIRANO, 1991 e 1993; MELO, 2005).

As camadas intermediária e profunda da LP das PVs constituem o ligamento vocal, o qual representa uma zona de transição que funcionaria como acoplador entre a mucosa superficial e o músculo vocal (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

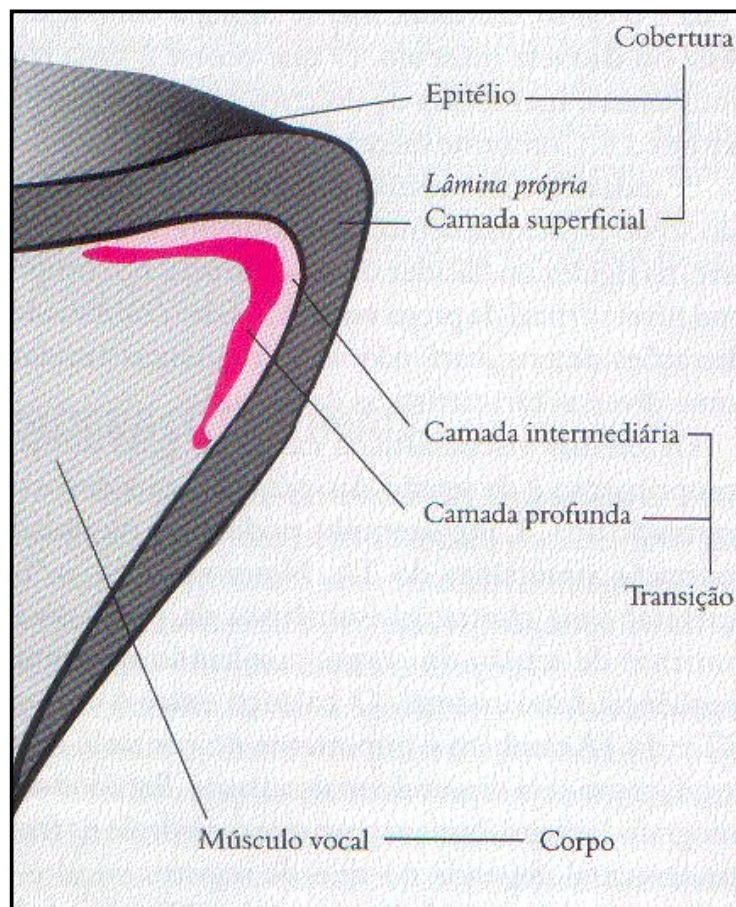
O músculo vocal (músculo TA) é a base da PV. Ele possui inserção anterior no ângulo da cartilagem tireóidea e posterior na apófise vocal. Possui dois feixes de fibras, um interno, que se insere no processo vocal, com fibras de atividade lenta e de ação na fonação, e outro externo, que se insere no processo muscular, relacionado ao processo de adução. Apresenta mitocôndrias, as quais são responsáveis pelo suprimento energético através da formação de adenosina trifosfato, com o dobro de tamanho em relação às mitocôndrias encontradas na musculatura do bíceps (ABITBOL, 1995).

HIRANO (1974 e 1993), baseado na análise da organização estrutural das PVs, as quais mostraram uma variação gradativa da rigidez de cada camada, sendo mais maleáveis na superfície e tornando-se cada vez mais rígidas em direção ao músculo vocal, introduziu o conceito "cobertura-corpo", segundo o qual as cinco camadas histológicas da PV são agrupadas conforme suas diferentes propriedades mecânicas, podendo, então serem constituídos três compartimentos (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003; MELO, 2005) (figura 2):

1. Cobertura: epitélio e camada superficial da lâmina própria
2. Transição: camada intermediária e camada profunda da lâmina própria.
3. Corpo vocal: músculo vocal.

Outro elemento importante na organização estrutural da PV é a camada de muco que recobre a mucosa. A presença de um filme mucoso de composição e viscosidade adequadas, que é continuamente deslocado sobre o epitélio, mantém as PVs úmidas e lubrificadas possibilitando a vibração. Não existem glândulas nas PVs, sendo esse muco produzido pelas glândulas do ventrículo e bandas ventriculares (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

FIGURA 2 – ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DA PREGA VOCAL. TEORIA DA “COBERTURA E CORPO”



FONTE: IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003

### 2.3 Função fonatória da laringe

A produção da fala envolve basicamente três processos: a produção do som glótico pela vibração das PVs, seguida da ressonância e articulação deste som, que ocorrem no trato vocal supraglótico. Desta forma não só a laringe, mas todo o sistema respiratório e também o trato vocal são importantes na produção da fala (PEARSON, 1994).

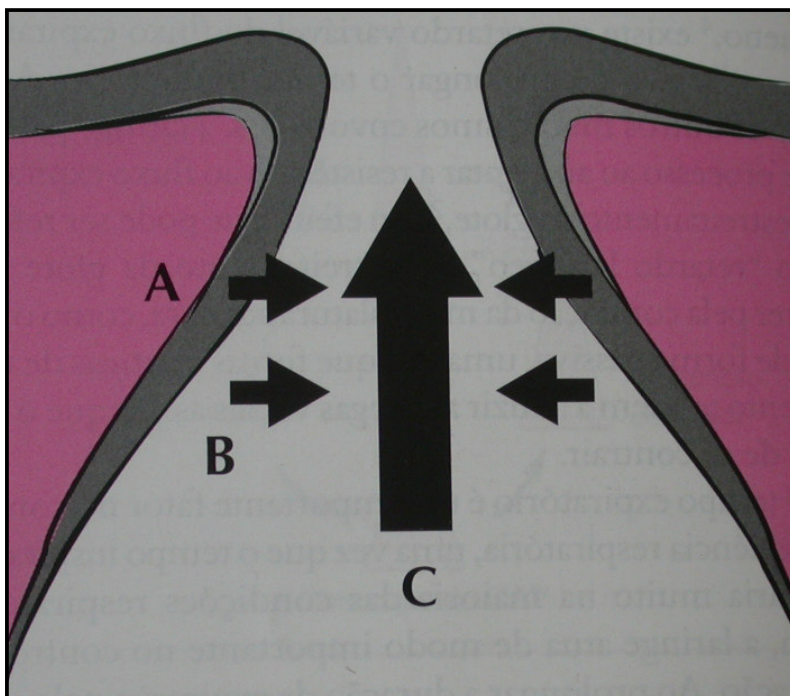
Durante a fonação, as PVs convertem a energia aerodinâmica gerada pelo fluxo expiratório em energia acústica. A vibração das PVs compreende o princípio básico desse fenômeno (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).



A teoria atualmente aceita para explicar o fenômeno vibratório é a teoria mioelástica-aerodinâmica. Segundo essa teoria, sob controle neuromuscular, as PVs são aduzidas na linha média, assumindo a postura fonatória, constituindo o componente mioelástico. A atividade neuromuscular participa ainda do controle da massa, tensão e elasticidade das PVs, fatores importantes para manutenção e modulação da vibração (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

A partir daí, o fenômeno vibratório ocorre basicamente por forças aerodinâmicas relacionadas ao fluxo aéreo expiratório. Uma vez que as PVs estão em posição fonatória, o fluxo expiratório encontra uma resistência no nível glótico (resistência glótica), gerando uma pressão subglótica crescente. Em determinado momento, essa pressão é suficientemente alta para vencer a resistência glótica e deslocar as PVs lateralmente, promovendo sua abertura gradual numa posição de inferior para superior (figura 3) (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DAS PRINCIPAIS FORÇAS QUE DETERMINAM A VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS

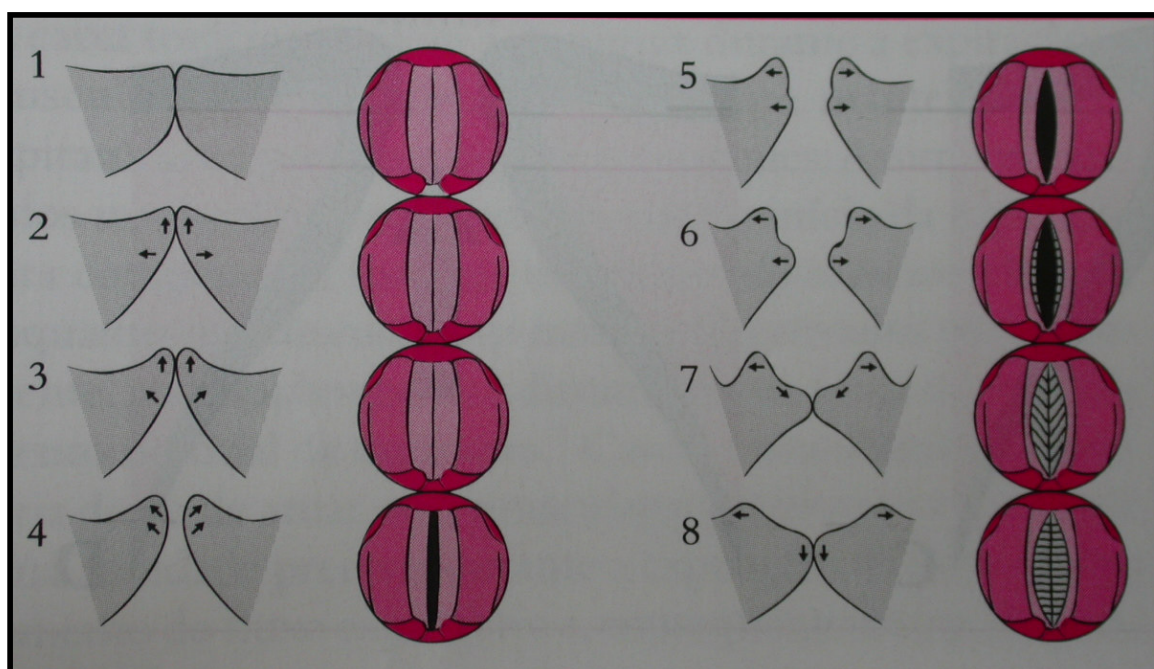


Nota: a força de abertura é representada pela pressão subglótica (C), e as forças de fechamento são representadas pela elasticidade da prega vocal (A) e pelo efeito de *Bernoulli* (B)

FONTE: IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003

Uma vez que a glote é aberta pela passagem do ar, diversas forças interagem imediatamente para promover o fechamento glótico. Existem três forças de fechamento principais: a elasticidade das PVs, o efeito de *Bernoulli* e a diminuição da pressão subglótica decorrente do escape de ar pela abertura glótica (figura 3). A elasticidade é regulada pela atividade da musculatura intrínseca das PVs, que controlam o grau de tensão, massa e estiramento das PVs. O efeito de *Bernoulli* estabelece que a alta velocidade do fluxo aéreo em uma região de estreitamento cria uma queda de pressão perpendicular à direção do fluxo, que no caso da glote faz com que as PVs sejam aspiradas em direção à luz da laringe. Essa sucção auxilia na aproximação das PVs. Finalmente, com o escape de ar pela glote, a pressão subglótica cai, reduzindo a força que mantém as PVs separadas. Pelo efeito conjunto desses três fatores, as PVs são aproximadas. Esse ciclo de vibração é chamado ciclo glótico ou vibratório (figura 4) (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

FIGURA 4 – CICLO VIBRATÓRIO NORMAL



Nota: por atuação da pressão subglótica, o lábio inferior começa a se afastar (2 e 3), ainda durante a fase fechada (1 a 3). Quando a glote se abre (4), tanto o lábio inferior como superior estão se afastando. Contudo, antes que o lábio superior atinja sua abertura máxima (7), o lábio inferior, que já atingiu (5), começa a se fechar, por atuação da elasticidade da prega vocal e do efeito de *Bernoulli*

FONTE: IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003



A cobertura é a região que mais vibra durante a fonação, por ser uma estrutura frouxa e flexível. Devido a sua maior maleabilidade quando comparada às estruturas mais internas, esse compartimento oscila sobre o corpo mais rígido, levando à formação de movimentos muco-ondulatórios, vistos à laringoestroboscopia. Quando a estrutura da PV é violada, sobretudo em suas camadas mais profundas, essa organização estrutural é substituída por fibrose, e as propriedades viscoelásticas vibratórias das PVs, ao menos na região lesada, são perdidas. Como consequência, a progressão das ondas mucosas fica prejudicada e a qualidade vocal deteriora (IMAMURA; TSUJI; SENNES, 2003).

#### 2.4 Reparação tecidual

A reparação tecidual é um processo dinâmico com alternâncias sucessivas de reações anabólicas e catabólicas, desencadeado por lesão tecidual. Consiste em uma harmoniosa e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a restauração do tecido que sofreu determinado tipo de dano (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

Reparação tecidual é um termo genérico que indica a substituição de um tecido lesado por novo tecido. A reparação pode ocorrer por regeneração ou cicatrização. Na regeneração, há substituição por tecido do mesmo tipo (morfo-funcionalidade semelhante), podendo não deixar nenhum traço residual de lesão (ocorre principalmente em tecidos constituídos por células lábeis). Na cicatrização há substituição por tecido conjuntivo fibroso (fibrose). Na maioria das vezes, a reparação tecidual ocorre por combinação desses dois processos (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1994; BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

### 2.4.1 Classificação dos processos biológicos da reparação tecidual

O processo de reparação tecidual pode ser descrito em três fases distintas, mas temporalmente superpostas: exsudativa ou inflamatória, proliferativa ou fibroblástica e de maturação ou remodelagem (HUPP, 2000; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

#### 2.4.1.1 Fase inflamatória ou exsudativa

Inicia-se no momento da injúria tecidual, sendo a coagulação sangüínea o primeiro evento que tem início nessa fase. Para MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM (2003), a coagulação sangüínea inicial seria uma fase à parte, e simultânea à fase inflamatória do processo de reparação tecidual. Essa fase depende da atividade plaquetária e da cascata de coagulação, sendo fundamental a vasoconstrição que ocorre por influência nervosa (descargas adrenérgicas) e ação de mediadores oriundos da desgranulação de mastócitos. A formação do coágulo coapta as bordas das feridas e oferece uma matriz provisória, em que os fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos podem ingressar (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A inflamação aguda depende de inúmeros mediadores químicos e das células inflamatórias. Os mediadores químicos são divididos em duas classes: os que controlam a permeabilidade vascular e os que atraem as células (quimiotaxia). O aumento da permeabilidade microvascular pela vasodilatação provocada por aminas vasoativas e peptídeos (histamina dos mastócitos, serotonina das plaquetas e bradicinina dos neutrófilos) acarreta o surgimento de pequenas fenestrações entre as células endoteliais, o que permite o extravazamento de plasma e migração de leucócitos para dentro do tecido intersticial. A fibrina proveniente do transudato plasmático provoca obstrução linfática, ocorrendo acúmulo de plasma, fundamental na tentativa de diluir contaminantes. Essa coleção fluida é denominada edema. A fase celular da inflamação é desencadeada pela ativação do sistema complemento sérico, particularmente C3a e C5, os quais atuam como quimiotáticos e causam aderência de leucócitos polimorfonucleares (HUPP, 2000).

As principais células inflamatórias são os leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos. Os polimorfonucleares chegam logo após a injúria tissular e ficam por período que varia de três a cinco dias, sendo eles os responsáveis pela fagocitose das bactérias. O macrófago é a célula inflamatória mais importante dessa fase, permanecendo do terceiro ao décimo dia. Fagocita bactérias, desbrida corpos estranhos e direciona o desenvolvimento do tecido de granulação. Os linfócitos aparecem na ferida em aproximadamente uma semana. Seu papel não é bem definido, porém sabe-se que suas linfocinas têm importante influência sobre os macrófagos (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com o importante papel da fibronectina, que é uma glicoproteína com função de adesão, sendo sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais. A fibronectina proporciona a adesão da fibrina ao colágeno e a outros tipos de células, funcionando assim como cola para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz. Além de formar essa base para a matriz extracelular, a fibronectina tem propriedades quimiotáticas e promove a psonização e fagocitose de corpos estranhos e bactérias (MOSHER; FURCHT, 1981; MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

#### 2.4.1.2 Fase proliferativa ou fibroblástica

A fase proliferativa é responsável pelo "fechamento" da lesão propriamente dita, podendo ser dividida em três subfases (reepitelização, fibroplasia e angiogênese). A primeira das subfases da proliferação é a *reepitelização* (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). O processo de reepitelização da ferida se inicia imediatamente após a lesão, onde o epitélio tenta restabelecer sua integridade por meio da migração dos queratinócitos e de um processo conhecido como “inibição de contato” (HUPP, 2000; BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A segunda subfase, que se inicia por volta do quarto dia, inclui a *fibroplasia* (formação de fibras colágenas) e formação da matriz extracelular, que é extremamente

importante na formação do tecido de granulação (coleção de elementos celulares, incluindo fibroblastos, células inflamatórias e componentes neovasculares e da matriz, como a fibronectina, as glicosaminoglicanas e colágenos tipo I e II). A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto que migra do tecido circundante. O fibroblasto produz, além de colágeno, elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, estas responsáveis pelo desbridamento e remodelamento fisiológico (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003; BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Os fibroblastos depositam procolágeno, o qual sofre entrelaçamento para produzir o colágeno. Inicialmente, o colágeno é produzido em quantidade excessiva e se deposita de forma aleatória. A má orientação das fibras diminui a eficácia do colágeno em conferir resistência à ferida, sendo que à medida que ocorre a remodelação dessas fibras a resistência da região aumenta (HUPP, 2000).

A última subfase da proliferação é a *angiogênese*, essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a reparação. Inicialmente as células endoteliais migram para a área ferida, sendo que a seguir proliferam (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003). Os neovasos correspondem a 60% do tecido de reparo, daí o nome de tecido de granulação, que deriva da proeminência dos vasos na lesão em cicatrização (PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

#### 2.4.1.3 Fase de maturação ou remodelação

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, com uma rede capilar atravessando-o, e a rede linfática em está franca regeneração, devido a sua reconstrução ter início posterior ao da vasculatura. Quando a ferida completa seu fechamento e os microorganismos são eliminados, os linfócitos constituem o subsistema leucocitário mais abundante. Os linfócitos não somente são efetores imunes, mas também, produtores de fatores de crescimento. De forma notável, nesta etapa, eles são atraídos para a região da ferida em igual número

ao dos monócitos sendo que, a partir do décimo quarto dia, são os leucócitos que predominam na região (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Com a evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparecem (observa-se a apoptose de fibroblastos e células endoteliais) formando finalmente a cicatriz. É consenso atualmente, que a resolução completa de uma ferida, somente pode ser considerada após concluída a maturação e remodelagem da matriz extracelular. Este processo ocorre lentamente levando muitos meses ou às vezes anos e, mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% da resistência da pele normal. Nota-se também que fatores sistêmicos (diabete, desnutrição) ou locais (corpo estranho, infecção) podem influenciar negativamente no processo de maturação tecidual (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A contração da ferida, provavelmente devido à contração de miofibroblastos, se inicia próximo ao final da fibroplasia e continua durante as fases da remodelação (HUPP, 2000; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

## 2.5 Importância do colágeno na reparação de feridas

Independente do tecido lesado, o colágeno, do ponto de vista funcional, é o componente mais importante na reparação de tecidos. As proteínas da família do colágeno são as maiores componentes da matriz extracelular, e representam aproximadamente 25% da proteína corporal total. As moléculas de colágeno consistem de três cadeias de polipeptídeos (cadeias- $\alpha$ ) idênticas ou similares, as quais formam uma tripla hélice. As hélices são secretadas no espaço extracelular como procolágeno. Após deixar a célula, os propeptídeos são removidos e se agrupam às moléculas de colágeno em fibrilas ou a outras estruturas que ocupam seu lugar (ANJOS; ALVARES-SILVA; BORELLI, 2000; ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; HAYASHI ; MIZUNO, 2006; PEREIRA, 2006).

O colágeno pode ser classificado de acordo com a estrutura da hélice dominante e com o seu tamanho molecular em cerca de três tipos, subdivididos em

cerca de vinte e sete subtipos de cadeias distintas (tabela 2) (ANEXO) (ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; HAYASHI, MIZUNO, 2006).

TABELA 2 – TIPOS E SUBTIPOS DO COLÁGENO DE ACORDO COM A ESTRUTURA DA HÉLICE DOMINANTE E COM O SEU TAMANHO MOLECULAR

<b>Colágeno</b>	<b>Tipos</b>
Fibrilar	I, II, III, XI e XXIV
Não-fibrilar grande	IV, VI, VII e XII
Cadeia curta	VIII, X e XIII

O colágeno tipo I é o maior componente estrutural do osso, pele, tendão, tecido fibroso, e constitui 90% do colágeno corporal. O colágeno tipo III é encontrado em tecidos similares ao tipo I, exceto na matriz óssea. O colágeno tipo IV é o colágeno não-fibrilar mais abundante no tecido de mamíferos. Este tipo de colágeno é encontrado quase que exclusivamente nas membranas basais. O tipo V é um colágeno fibrilar encontrado nas mesmas células mamíferas onde também são encontrados os colágenos tipos I e III, sendo também encontrado nas membranas basais ou perto delas (ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; PEREIRA, 2006).

Os colágenos tipos I e III são os mais importantes colágenos fibrilares produzidos pelo tecido de granulação durante a cicatrização de feridas, e sua taxa varia em diferentes tecidos e durante as fases da formação do tecido de granulação (ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; PEREIRA, 2006).

Durante o processo de reparação tecidual, o tecido de granulação vai sendo enriquecido com fibras de colágeno, sendo que por volta de duas semanas as fibras colágenas passam a predominar na matriz extracelular, sobretudo as fibras do tipo I, mais espessas, que predominam em relação à do tipo III, mais finas, conferindo a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz (ROCHA, 2004).

A resistência de uma cicatriz é dada pela quantidade de colágeno depositada e pela forma com que as fibras estão organizadas. Quanto maior o número de ligações covalentes transversais, maior a resistência da cicatriz. Quando secretado na forma de tropocolágeno, as ligações transversais das fibras se dão por pontes de hidrogênio. No

processo de amadurecimento da fibra, as lisinas, hidroxilisinas e lisinas glicosiladas constituintes da molécula de tropocolágeno são oxidadas até aldeídos pela enzima lisiloxidase. Estes, após a oxidação, se ligam covalentemente com outros grupos aldeídos ou com lisinas não oxidadas, o que aumenta a resistência da fibra. O processo de remodelamento da cicatriz envolve etapas sucessivas de produção, digestão e orientação das fibrilas de colágeno (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A deposição de colágeno é feita a princípio de maneira aleatória tendo como orientação a organização da fibronectina e dependente da natureza e direção das tensões aplicadas ao tecido. Essas fibras são subsequenteiramente digeridas pela collagenase, ressintetizadas, rearranjadas de acordo com a organização das fibras do tecido conjuntivo adjacente e lateralmente ligadas por ligações covalentes. Essas ligações são formadas entre moléculas de tropocolágeno no âmbito da fibrila e entre as próprias fibrilas. Repetições sucessivas da lise, ressíntese, redirecionamento e religação formam fibras de colágeno maiores resultando numa configuração mais regular da cicatriz, o que aumenta a resistência cicatricial (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

## 2.6 Fisiopatologia da cicatrização na prega vocal

A desorganização da relação corpo e cobertura causa disfonia por prejudicar a vibração da PV (HIRANO, 1993; BENNINGER; ALESSI; ARCHER, 1996).

As alterações histológicas nas camadas da LP das PVs submetidas a tratamento cirúrgico por doenças tumorais, granulomas, papilomas e aderências podem levar à formação de cicatriz pela proliferação do tecido conjuntivo. A exérese destas lesões normalmente não preserva a camada superficial da LP, observando-se, na avaliação histomorfológica das PVs no pós-operatório, hipercicatrização, resultando na perda da flexibilidade desta lâmina sob o epitélio de revestimento (BENNINGER; ALESSI; ARCHER, 1996).

A LP (predominantemente a camada superficial) funciona como um colchão elástico entre o epitélio e as camadas mais profundas da PV (músculo TA). Com a perda do colchão elástico no processo cicatricial, a vibração da PV é severamente

prejudicada e resulta em fechamento glótico incompleto com conseqüente perda de ar durante a fonação (HIRANO, 1993; ROSEN, 2000).

WOO et al. (1994) analisaram retrospectivamente a persistência ou recorrência das disfonias no pós-operatório de cirurgia laríngea de sessenta e dois casos no período de 1987 a 1992. Esses casos de disfonia persistente foram atribuídos a sinéquias (cicatriz) na PV (n = 22 casos), inflamação residual (n = 13), massa residual da lesão (n = 12) e desordem hiperfuncional da voz (n = 7). Concluíram que a avaliação interdisciplinar dos pacientes disfônicos depois da cirurgia laríngea mostra-se útil na definição da patologia e no tratamento da reabilitação vocal.

Na explicação de BENNINGER, ALESSI e ARCHER (1996), a cicatriz da PV é uma das mais desafiantes em razão da alteração ocasionada pela patologia instalada na mucosa e submucosa e dificuldade na reabilitação da disfonia. Os pesquisadores compararam as técnicas “frias” com a técnica a *laser* de CO<sub>2</sub> na ressecção de nódulos, pólipos e cistos nos bordos livres das PVs, e concluíram que não há diferença clínica nos resultados pós-operatórios obtidos, utilizando-se uma ou outra técnica.

## 2.7 Coloração de *Picrosirius Red*

SWEAT, PUCHTLER e ROSENTHAL (1964), procurando por um material que corasse permanentemente o colágeno, introduziram na técnica histológica, o corante Vermelho Sírrio associado ao Ácido Pícrico (solução de *Picrosirius Red*), que substituiu a Fucsina Ácida no método tricrômico de Van Gieson. Quatro anos depois CONSTANTINE e MOWRY (1968) observaram que o Vermelho Sírrio aumentava a birrefringência das fibras colágenas quando estudadas em microscópio de polarização.

O uso de solução de *Picrosirius Red* associado à microscopia polarizada apresenta grande sensibilidade e especificidade, constituindo-se método simples para localizar fibras colágenas em vertebrados, além de diferenciá-las em colágeno I, II e III através da birrefringência (JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; SZENDRŐI et al., 1984; RABAU;



DAYAN, 1994; HIRSHBERG; BUCHNER; DAYAN, 1996; HIRSHBERG et al., 1999; MELO et al., 2003).

Como o colágeno é uma proteína básica, é provável que os grupos sulfônicos do corante Vermelho Sírrio a 0,1% possam interagir em pH baixo com os grupos amino da lisina e hidroxilisina, e os grupos guanidina da arginina. O papel do Ácido Pícrico na coloração do colágeno é desconhecido, sendo que, quando omitido da solução corante, todos os componentes teciduais ficam vermelhos. Portanto, este parece prevenir a coloração indiscriminada de estruturas não colagenosas pelo Vermelho Sírrio. Observa-se, contudo, que mesmo quando o Ácido Pícrico não é usado, apenas o colágeno mostra intensificação da birrefringência (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979).

Com a microscopia polarizada se observa o aumento da birrefringência das fibras colágenas quando coradas pela solução de *Picrosirius Red*. Verifica-se, também, que devido à diferença no diâmetro e arranjo estrutural das fibras colágenas, pode-se distinguir em padrões de cores os diferentes tipos de colágeno: tipo I (fibras espessas amarelo brilhante, laranja ou vermelha), tipo II (cores variadas distintas das observadas no colágeno I) e tipo III (fibras finas esverdeadas, amarelo-esverdeado) (figura 5) (SZENDRŐI et al., 1984; RABAU; DAYAN, 1994; HIRSHBERG; BUCHNER; DAYAN, 1996; HIRSHBERG et al., 1999).

FIGURA 5 – LÂMINA CORADA COM *PICROSIRIUS RED*. À ESQUERDA SEM POLARIZAÇÃO E À DIREITA COM LUZ POLARIZADA, ONDE SE OBSERVA COLÁGENO TIPO I (AMARELO BRILHANTE) E TIPO III (AMARELO-ESVERDEADO)



FONTE: Modificado de CHAPMAN; TURK, 2004

A quantificação computadorizada, através da soma da área corada pelo *Picrosirius Red* após polarização, é um método bem estabelecido pela literatura para avaliação da quantidade de deposição de colágeno em estudos que visam à avaliação da cicatrização (RIBEIRO et al., 2004).

## 2.8 *Laser* na cirurgia da laringe

Einstein postulou a teoria da emissão estimulada de radiação em 1917, discutindo a interação de átomos, íons e moléculas com a radiação eletromagnética (ROCHA, 2004; KLEPPNER, 2005). DICKE e WITTKE (1960) demonstraram a organização da energia em um feixe de luz intenso por processo de *feedback* óptico e amplificação. Esse processo é o princípio físico do *laser* (*light amplification of stimulated emission of radiation* ou amplificação luminosa por emissão estimulada de radiação).

O *laser* é um fluxo luminoso de alta intensidade de energia com características bem definidas (SANTOS et al., 2003; ROCHA, 2004):

- a) Único comprimento de ondas (monocromatismo)
- b) Sem divergência dos raios, mesmo por grandes distâncias (colimada)
- c) Paralelismo das ondas (coerência)
- d) Pulsos de duração curta

Os instrumentos a *laser* têm uma câmara óptica com dois espelhos, separados por meio ativo, o qual pode ser uma mistura de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ou outro material. Uma fonte de energia externa excita o meio ativo, ocorrendo emissão de fótons, que passam por um sistema de lentes e espelhos direcionando a emissão (BRUNETAUD; DECOMPS, 1982).

O *laser* mais comumente utilizado em cirurgia laríngea é o de CO<sub>2</sub> (SANTOS et al., 2003), que é composto por uma mistura de gases com dióxido de carbono (4,5%), nitrogênio (13,5%) e hélio (82%) (WATANABE, 1999). O aparelho pode ser acoplado a um conjunto de espelhos, possibilitando seu uso juntamente com o

microscópio, o que aumenta sua aplicabilidade, permitindo ao cirurgião operar com as duas mãos (BRUNETAUD; DECOMPS, 1982; PINTO, 2002).

O *laser* de CO<sub>2</sub> produz luz infravermelha invisível no espectro eletromagnético, com comprimento de onda de 10,6 µm ou 10600 nm. A luz vermelha que se vê quando do funcionamento do aparelho, é de um *laser* de radiação visível, de baixa intensidade de Hélio-Neon, entre 400 e 700 nm, e serve de guia para a realização de procedimentos terapêuticos (BRUNETAUD; DECOMPS, 1982; PINTO, 2002).

O tecido biológico pode responder à ação do *laser* através de reflexão, transmissão, difusão e absorção. Para que haja efeito da luz *laser* sobre o tecido, é necessário que este o absorva e converta a radiação em calor. O aquecimento pode resultar nos seguintes efeitos nos tecidos: coagulação, carbonização ou vaporização. A coagulação promove desnaturação protéica, produzindo hemostasia ou necrose de pequenos vasos sanguíneos com diâmetros de 0,3 a 0,5 mm. A vaporização pode ser usada para o corte cirúrgico ou a evaporação tecidual, removendo a superfície do tecido normal ou patológico. O efeito da vaporização é conseguido pela transferência de energia do feixe luminoso para a água dos tecidos. A temperatura eleva-se além de seu ponto de ebulição, destruindo as proteínas celulares, aumentando a pressão intracelular e determinando a explosão das células. Há liberação do vapor de água e de detritos, que se carbonizam sob a ação contínua do *laser* (WATANABE, 1999).

A quantidade de energia absorvida depende da potência do *laser* e do coeficiente de absorção do tecido. O feixe de luz *laser* de CO<sub>2</sub> é absorvido numa proporção direta ao seu conteúdo de água, independente da coloração do tecido. Os tecidos humanos contendo 80% de água absorvem instantaneamente a luz *laser* de CO<sub>2</sub>, o que acarreta menor dano aos tecidos adjacentes (WATANABE, 1999).

A lesão tecidual é dependente do coeficiente de absorção, potência do *laser*, tempo de exposição e comprimento da onda de energia. A lesão térmica começa em 50° C, a coagulação ocorre entre 60 e 65° C e a desnaturação protéica entre 70 e 100° C. Em temperaturas superiores a 100° C, ocorre a carbonização do tecido (PASCHOAL, 1991).

Novas tecnologias de *laser* como o uso de *microspot* reduzindo o diâmetro do raio na área de impacto associado ao superpulso, no qual a energia é aplicada em um tempo mais curto, têm aumentado suas indicações médicas (SANTOS et al., 2003). As vantagens do *laser* na laringologia são muitas: é absorvido pela água, principal elemento do tecido das PV, tem efeito de corte com mínima lesão térmica, é preciso, a hemostasia é excelente e ocorre mínima manipulação do tecido, diminuindo o risco de infecção (BRUNETAUD; DECOMPS, 1982; PINTO, 2002).

## 2.9 Uso de corticóide em pregas vocais

Os corticoesteróides têm ação antiinflamatória por diminuírem a migração celular, a proliferação celular (neutrófilos e macrófagos) e a angiogênese, uma vez que suprimem tanto a imunidade celular como a humoral (GAUCI et al, 1976; HUNT, 1986; PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003). Esses efeitos têm reflexo no processo de reparação tecidual, onde os corticoesteróides além da supressão da resposta inflamatória aumentam a lise do colágeno. Sua ação é mais marcante durante os primeiros quatro dias após a lesão, sendo que após este período eles têm menor efeito antiinflamatório (PICCINATO; NETTO; CHERRI, 2003).

Dexametasona (fosfato dissódico de dexametasona) é um glicocorticóide sintético usado principalmente por seus potentes efeitos antiinflamatórios. Está contraindicada de forma sistêmica, nos casos de infecções fúngicas sistêmicas, hipersensibilidade a sulfitos ou a qualquer outro componente do medicamento e administração de vacinas de vírus vivo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006).

As necessidades posológicas da dexametasona, são variáveis e individualizadas segundo a gravidade da moléstia e a resposta do paciente. A dose inicial usual varia de 0,75 a 15 mg por dia, dependendo da doença que está sendo tratada (para crianças as doses recomendadas terão, usualmente, de ser reduzidas – 0,08 a 0,3 mg/kg/dia, no entanto, a posologia deve ser ditada mais pela gravidade da afecção que pela idade ou

peso corpóreo). As doses podem ser administradas duas, três ou quatro vezes ao dia (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006).

A dexametasona é aproximadamente equivalente à betametasona, 4 a 6 vezes mais potente que a metilprednisolona e a triancinolona, 6 a 8 vezes mais potente que a prednisolona e a prednisona, 25 a 30 vezes mais potente que a hidrocortisona, e cerca de 35 vezes mais potente que a cortisona (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006).

O uso de corticóides sistêmicos e/ou injetados nas PVs vem sendo relatado como tratamento adjuvante à cirurgia, reduzindo o processo cicatricial. Estudos clínicos realizados por TATEYA et al. (2003 e 2004), avaliando o corticóide injetado na LP da PV, demonstraram o efeito benéfico do corticóide no tratamento de lesões fonotraumáticas como nódulos vocais e edema de *Reinke*, melhorando a qualidade vocal e diminuindo o tempo de fonoterapia. BOUCHAYER e CORNUT (1988) utilizaram corticóide injetado intracordal antes da exérese de lesões benignas da laringe por técnica de *microflap*, e analisaram no pós-operatório, a acústica vocal e o fechamento glótico através de estroboscopia, onde referiram a melhora do fechamento glótico e da qualidade vocal.

COLEMAN, SMITH e REINISCH (1999), observaram os efeitos histológicos e funcionais do uso unilateral de corticóide em *microflap* de quinze cães. A análise da secção histológica da PV tratada com corticóide foi estudada por morfometria computadorizada, examinando-se diferentes respostas de cicatrização tecidual. A avaliação do aumento do infiltrado inflamatório ao redor do *microflap* na PV com uso de corticóide foi verificado na 2ª, 4ª e 6ª semana (aumentando respectivamente 6,3%, 30,6% e 34,9%, com  $p < 0,02$ ). A resposta de neovascularização com corticoterapia foi menor com 2 semanas (-20,9%,  $p < 0,005$ ), mas aumentou em 4 e 6 semanas (16,3% e 4,3%,  $p < 0,005$ ). A análise histológica do efeito do corticóide no processo de cicatrização demonstrou um atraso na resposta do tecido tratado com corticóide, de 12 dias para infiltrado inflamatório e 21 dias para resposta neovascular. Entretanto a análise da laringoestroboscopia não demonstrou diferença das características do *microflap* dos casos tratados com corticóide e os controles. Concluiu-se que apesar dos

corticóides causarem atraso no processo de cicatrização, não houve melhora quantitativa e nem qualitativa da análise estroboscópica da laringe.

ALENCAR (2005), em PV de modelo suíno, quantificou a fibroplasia em PV, e não encontrou diferença estatisticamente significativa em estudo experimental envolvendo o uso intracordal de Fosfato Dissódico de Dexametasona previamente ao procedimento cirúrgico a frio do tipo *microflap* laríngeo, em relação ao grupo controle sem uso de injeção intracordal prévia.

### 3 MATERIAL E MÉTODO

#### 3.1 Tipo de estudo

Este estudo prospectivo e experimental foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR), sediada no município de Piraquara (Rua Ivone Pimentel, s/n - Cangüiri, Piraquara – Paraná).

Foram seguidos os princípios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1991), e as recomendações para morte de animais experimentais propostas por CLOSE et al. (1997). O experimento foi aprovado pela comissão de ética da instituição.

#### 3.2 Amostra

Foram utilizados nesse experimento doze suínos da raça *Larger White* (7 machos e 5 fêmeas) adquiridos na fazenda da UFPR.

Os animais pesaram entre 8,7 Kg e 11,5 Kg, com média de 10,1 Kg. A idade variou de 27 a 31 dias.

De acordo com os padrões da EMBRAPA (2005), os porcos foram avaliados clinicamente, e considerados sadios, por médico veterinário da fazenda experimental da UFPR, dentro da distribuição normal de peso para a idade.

Os doze suínos foram numerados segundo o padrão adotado na fazenda Experimental da UFPR, utilizando cortes nas pontas das orelhas, de um a seis conforme o número do animal, sendo na orelha direita quando pertencente ao grupo experimento e orelha esquerda quando do grupo controle.

### 3.3 Delineamento do experimento

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, um controle e um experimento, os quais ficaram alojados em grupos de seis em cada baia (tabela 3).

No grupo controle (GC), composto por seis animais, foi inicialmente aplicado 0,2 ml de Solução Fisiológica intra-cordal em ambas as PVs, sendo logo a seguir, realizado excisão de mucosa de borda livre do terço anterior de PV esquerda, utilizando *laser* de CO<sub>2</sub>.

No grupo experimento (GE), também composto por seis animais, foi inicialmente aplicado 0,2 ml de Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml intra-cordal em ambas as PVs, sendo logo a seguir, realizado excisão de mucosa de borda livre do terço anterior de PV esquerda, utilizando *laser* de CO<sub>2</sub>.

TABELA 3 – DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO

Grupos	Aplicação Intracordal de 0,2 ml de solução em ambas as pregas vocais		Prega Vocal (PV) e Procedimento
Controle (n = 6)	Solução salina		PV direita: não realizado cirurgia
			PV esquerda: exérese de fragmento de bordo livre <i>c/ laser</i> de CO <sub>2</sub>
Experimento (n = 6)	Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml		PV direita: não realizado cirurgia
			PV esquerda: exérese de fragmento de bordo livre <i>c/ laser</i> de CO <sub>2</sub>

### 3.4 Albergamento dos animais

Foram utilizadas baias de 1,2 x 1,8 m com piso ripado para coleta de dejetos, dotada de comedouro manual com ração padrão. O bebedouro, situado ao lado do comedouro, forneceu água “*ad libitum*” (figura 6).



FIGURA 6 – SUÍNOS *LARGER WHITE* NO LOCAL DE ALBERGAMENTO



### 3.5 Anestesia

Os animais foram submetidos a jejum por 12 horas sendo o suprimento de água retirado 6 horas antes do procedimento cirúrgico.

Todos os animais foram anestesiados pelo mesmo veterinário, habituado em anestesia de animais de médio e grande porte. Receberam antes da indução anestésica, midazolam (*Dormonid*<sup>®</sup> 1mg/ml) na dose de 0,1 mg/Kg por via intramuscular (IM), acepromazina 1% (*Acepran*<sup>®</sup> 1%) na dose de 0,1 mg/Kg por via IM, ketamina (*Ketalar*<sup>®</sup> 50 mg/ml) na dose de 10 mg/Kg por via IM, atropina 0,5 mg/ml na dose de 0,06 mg/kg por via IM.

Após a realização da medicação pré-anestésica, obteve-se acesso venoso nas veias superficiais da orelha, abdome ou membros através de agulha 22 G, sendo então

realizada anestesia com propofol na dose de 6 mg/kg por via intravenosa (IV). Manteve-se anestesia durante o procedimento cirúrgico com a mesma medicação na dose de 0,4 mg/Kg por via IV.

Os suínos foram monitorizados através de cardioscópio (*Funbep*<sup>®</sup>). Para eventuais depressões respiratórias ou apnéias estava disponível oxigênio em recipiente portátil.

### 3.6 Procedimento cirúrgico

#### 3.6.1 Posicionamento

Após a anestesia os animais foram posicionados em decúbito dorsal, em proclive em mesa especial para castramento, coberta por campo cirúrgico estéril. Para a retificação da laringe foi colocado coxim de campo cirúrgico na região dorsal superior do animal (figura 7).

FIGURA 7 – POSIÇÃO CIRÚRGICA



### 3.6.2 Introdução do laringoscópio

Utilizou-se laringoscópio infantil (*Microfrance*<sup>®</sup>) com angulação para comissura anterior (figura 8).

Depois de posicionado, o laringoscópio foi suspenso com apoio sobre o tórax do animal, sendo também escorado por um auxiliar, para melhor observação da região do terço anterior da glote suína (figura 9).

FIGURA 8 – LARINGOSCÓPIO INFANTIL COM ANGULAÇÃO ANTERIOR



FIGURA 9 – LARINGOSCÓPIO POSICIONADO E SUSPENSO POR UM AUXILIAR



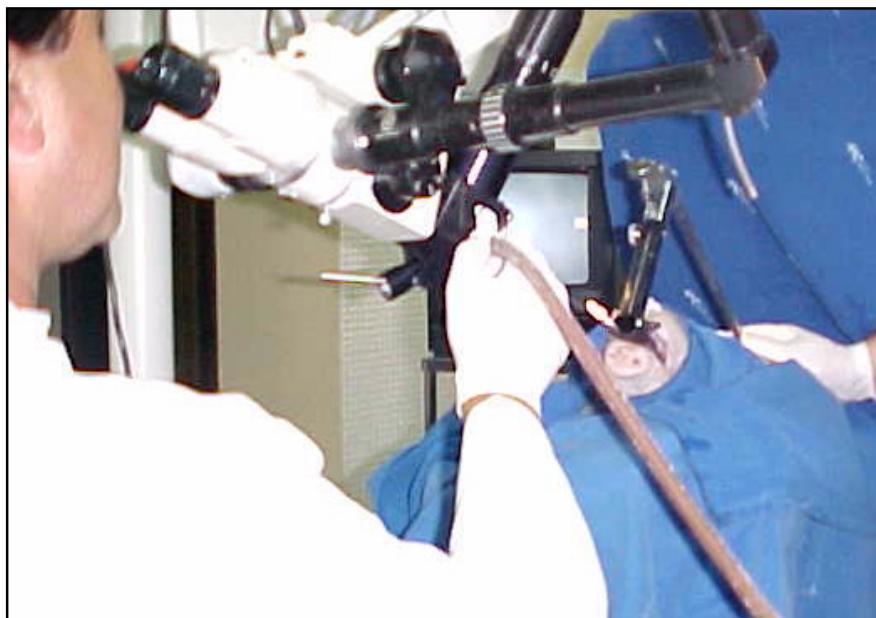
### 3.6.3 Observação das pregas vocais e material audio-visual

Utilizou-se microscópio cirúrgico *D.F. Vasconcelos* 6700, com binocular reta com lente de 400 mm, com sistema de câmera acoplada (*Storz*®) para observação da glote e a realização do procedimento cirúrgico (figura 10). Todos os procedimentos cirúrgicos foram gravados em fita de vídeo VHS (aparelho televisão-vídeo AG-513 A *Panasonic*®) (figura 11).

Foi acoplado ao microscópio equipamento de *laser Sharplan*®, no modo *microspot* com superpulso.



FIGURA 10 – MICROSCÓPIO CIRÚRGICO COM *LASER* DE CO<sub>2</sub> ACOPLADO



Nota: observa-se a posição do cirurgião visibilizando as PVs com microscópio cirúrgico acoplado ao *laser* de CO<sub>2</sub>

FIGURA 11 – EQUIPAMENTO DE CAPTAÇÃO E REPRODUÇÃO DE IMAGEM



### 3.6.4 Aplicação da solução intracordal

Solução fisiológica (GC) ou solução de Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml (GE) foi aplicado intra-cordalmente no terço anterior da PV direita e esquerda através de agulha de *scalp* conectada a tubo de borracha e seringa de insulina.

Após preencher todo o espaço do tubo do *scalp*, a agulha era introduzida no terço anterior da PV na região do espaço de *Reinke*, aplicando-se 0,2 ml da solução em ambas as PVs (figura 12).

FIGURA 12 – INJEÇÃO DE CORTICÓIDE INTRACORDAL EM PREGA VOCAL

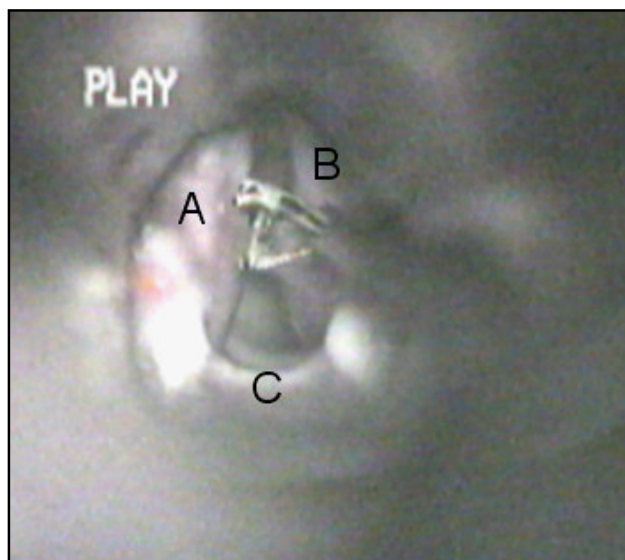


### 3.6.5 Excisão de fragmento de mucosa de prega vocal esquerda com *laser* de CO<sub>2</sub>

O procedimento de excisão foi realizado logo após a injeção intracordal da solução respectiva, e teve início com a apreensão da mucosa do terço anterior do bordo livre da PV esquerda, com pinça de *Bouchayer* do tipo coração (*Microfrance*®). A seguir procedeu-se à exérese de aproximadamente 2 mm da mucosa apreendida com *laser* de CO<sub>2</sub> com 2 W de potência, de forma contínua, no modo focado, em superpulso com *microspot* de 250 µm (figura 13).

As PV direitas não foram manipuladas cirurgicamente.

FIGURA 13 – PREENSÃO DO BORDO LIVRE DE PREGA VOCAL ESQUERDA COM PINÇA DE *BOUCHAYER* DO TIPO CORAÇÃO



Legenda: PV esquerda (A) PV direita (B) Comissura posterior (C)

### 3.7 Sacrifício

O sacrifício dos animais ocorreu 30 dias após o procedimento cirúrgico, sendo realizada no abatedouro da Fazenda Experimental da UFPR.

Os animais foram submetidos ao mesmo pré-anestésico e anestésico utilizado no procedimento cirúrgico, seguido de eletrocussão, sendo confirmada a morte pela supressão cardiorrespiratória e reflexo midriático.

### 3.8 Remoção da laringe e análise macroscópica

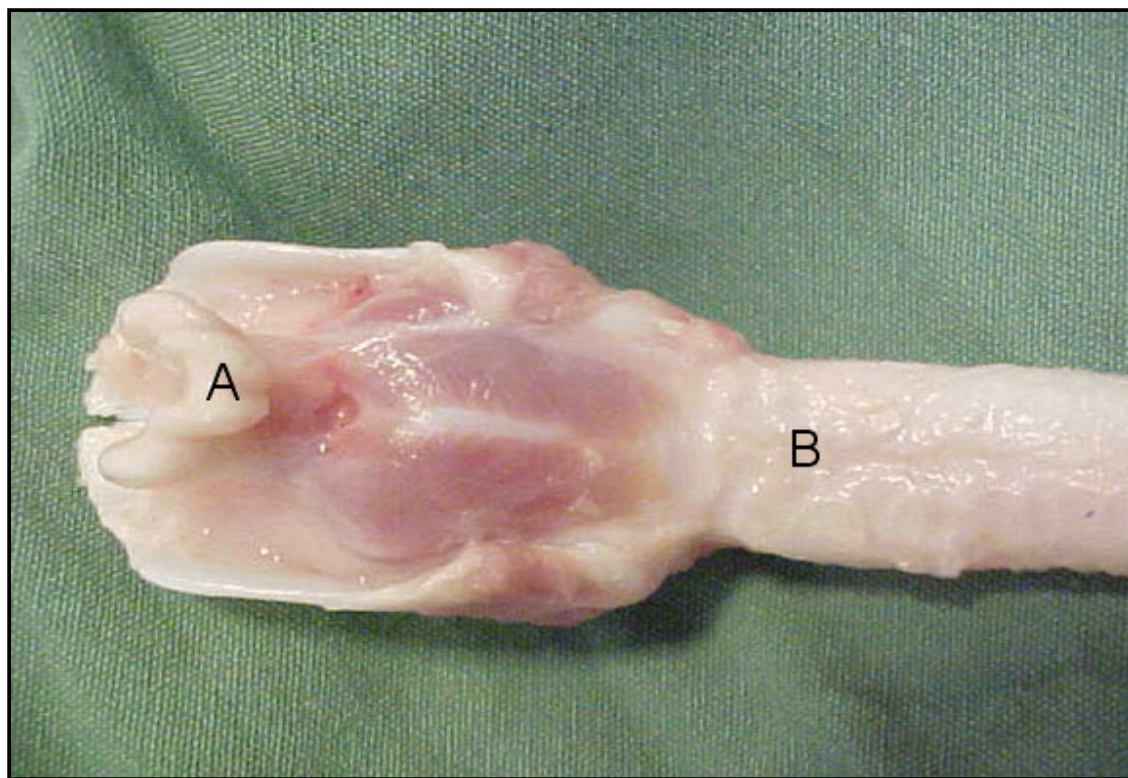
Após a morte, na própria Fazenda Experimental a laringe do animal foi removida em bloco, da base da língua ao quarto anel traqueal, sendo realizada, inicialmente, análise macroscópica da glote pelo pesquisador, observando a presença ou ausência de sinéquias pós-operatórias (figura 14).

Realizou-se a seguir, incisão longitudinal ventral na laringe com bisturi lâmina nº15 (figura 15), para expor as PVs. A glote foi reexaminada macroscopicamente quanto à presença ou ausência de sinéquias pós-operatórias (figura 16). Seguiu-se a

incisão com bisturi lâmina nº15 rente à cartilagem tireóide para exérese de fragmento mucoso do terço anterior da PV esquerda (figura 17).

A peça foi fixada com alfinetes sobre um retângulo de papel cartão a fim de mantê-la esticada. Foi realizada a identificação da amostra que constava de uma letra (grupo) e um algarismo (número do animal). Posteriormente a peça foi incluída em formol a 10% durante 24 horas, sendo a seguir enviada para análise microscópica de forma randomizada e duplo-cego.

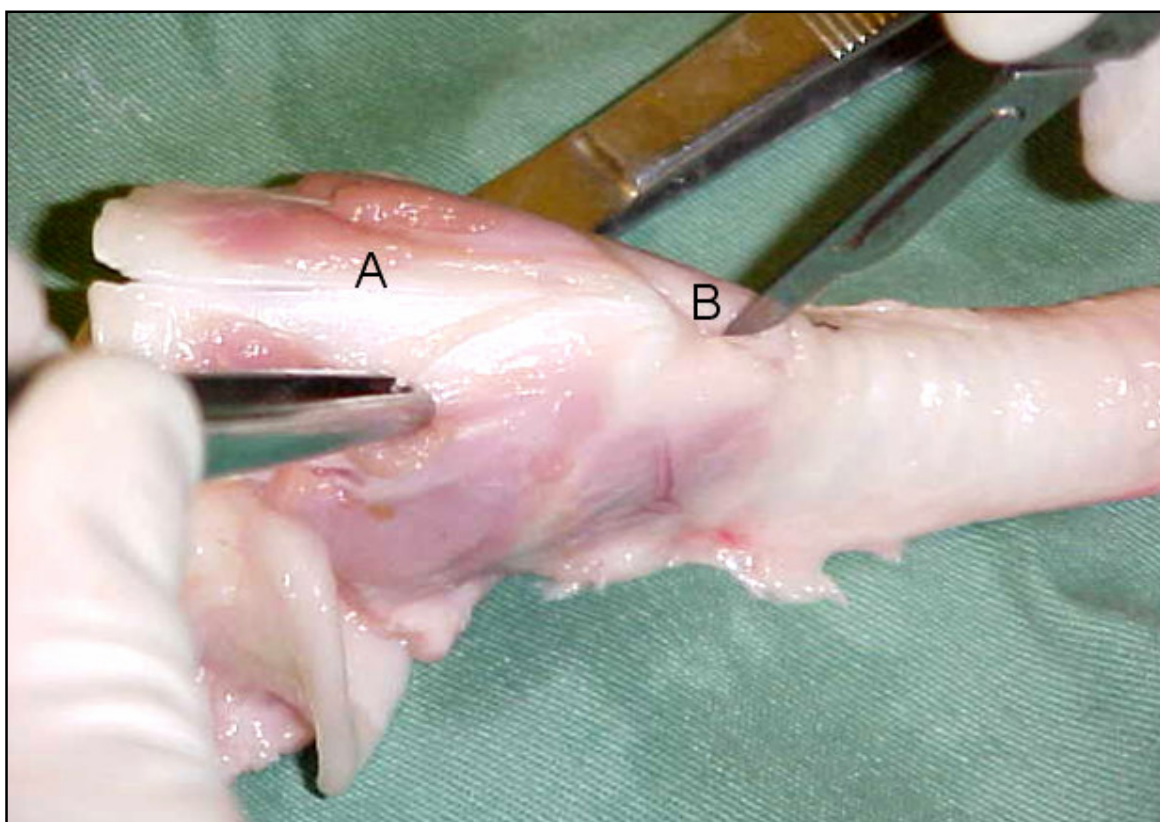
FIGURA 14 – LARINGE DO PORCO RETIRADA POR INTEIRO DA BASE DA LÍNGUA AO QUARTO ANEL TRAQUEAL



Legenda: Epligote (A) Traquéia (B)

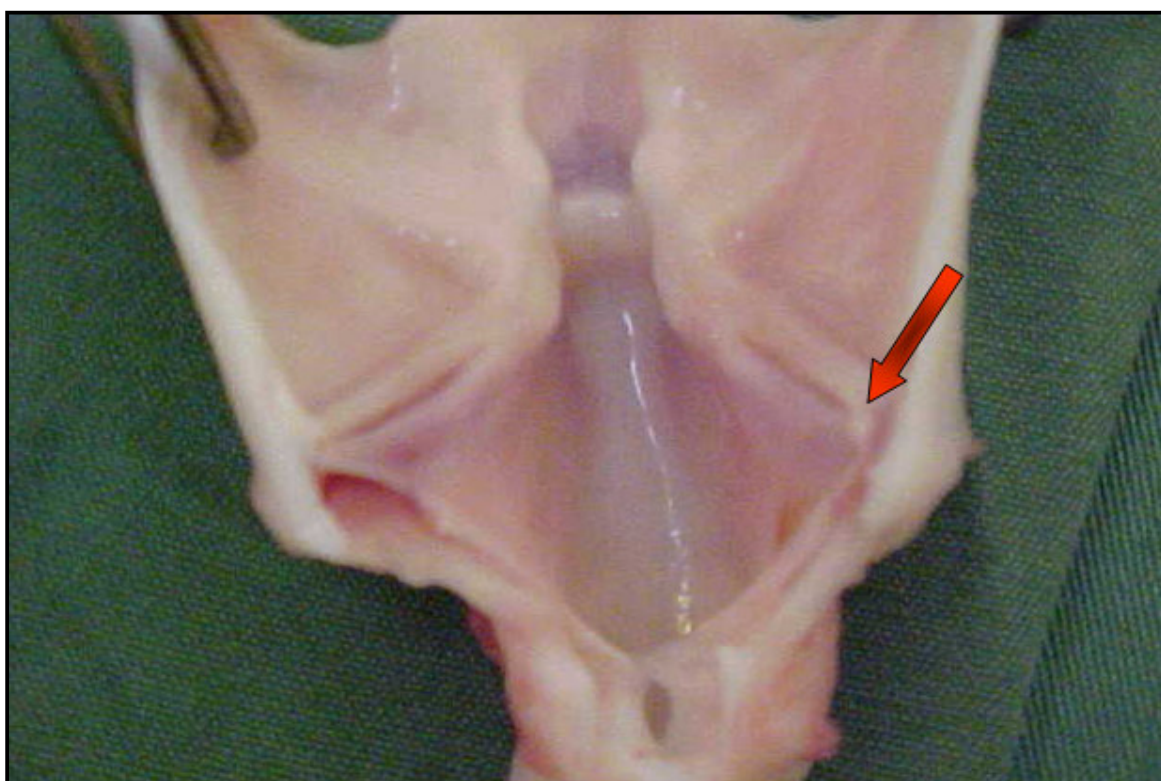


FIGURA 15 – INCISÃO MEDIANA VENTRAL NA LARINGE



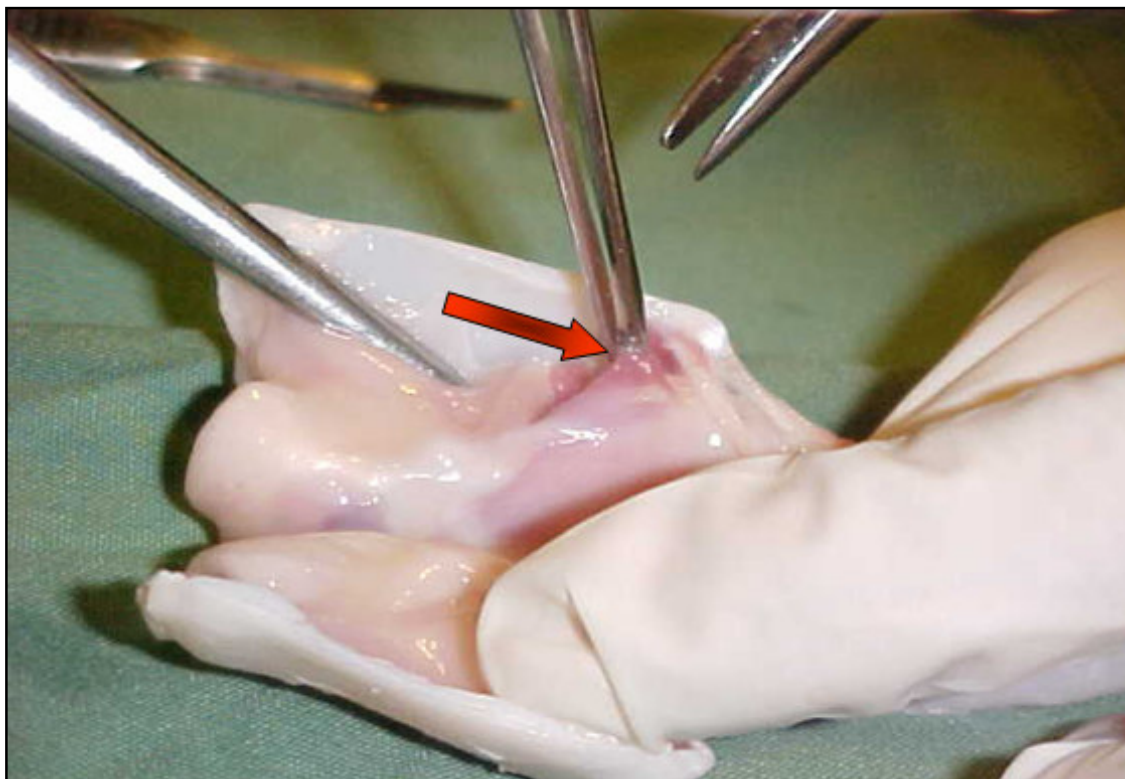
Legenda: Cartilagem Tireoidiana (A) Membrana Crico-tireoidiana (B)

FIGURA 16 – VISIBILIZAÇÃO DA GLOTE SUÍNA APÓS A ABERTURA VENTRAL DA LARINGE E ANÁLISE MACROSCÓPICA DE PRESENÇA OU AUSÊNCIAS DE SINÉQUIAS



Nota: a seta aponta para a área submetida à exérese do fragmento de mucosa (terço anterior de PV esquerda)

FIGURA 17 – RETIRADA DE FRAGMENTO MUCOSO DO TERÇO ANTERIOR DA PREGA VOCAL ESQUERDA



Nota: a seta aponta para a área submetida a exérese de fragmento de mucosa.

### 3.9 Preparo das amostras para análise histológica

Finalizado o período de fixação de 24 horas em formol 10%, foram retiradas duas amostras retangulares da lâmina histológica.

Todas as amostras foram acondicionadas em cápsula histológica e colocadas no autotécnico (*Leica*® modelo RM 2145), para processamento *overnight*, sendo desidratadas em concentrações diferentes e crescentes de álcool etílico a 70%, 80% e 90%. Posteriormente foram diafanizadas em xilol contendo misturas sequencialmente concentradas de parafina durante 12 horas. Em seguida, foram incluídas em parafina quente (*Leica*® modelo EG 1160). Os blocos de parafina foram microtomizados em cortes de 5  $\mu$ m e dispostos em lâmina de vidro de 75x25 mm, tendo sido executados

dois níveis de corte para cada área de estudo. As lâminas a seguir, foram coradas em solução de *Picrosirius Red* (figura 18 e 19).

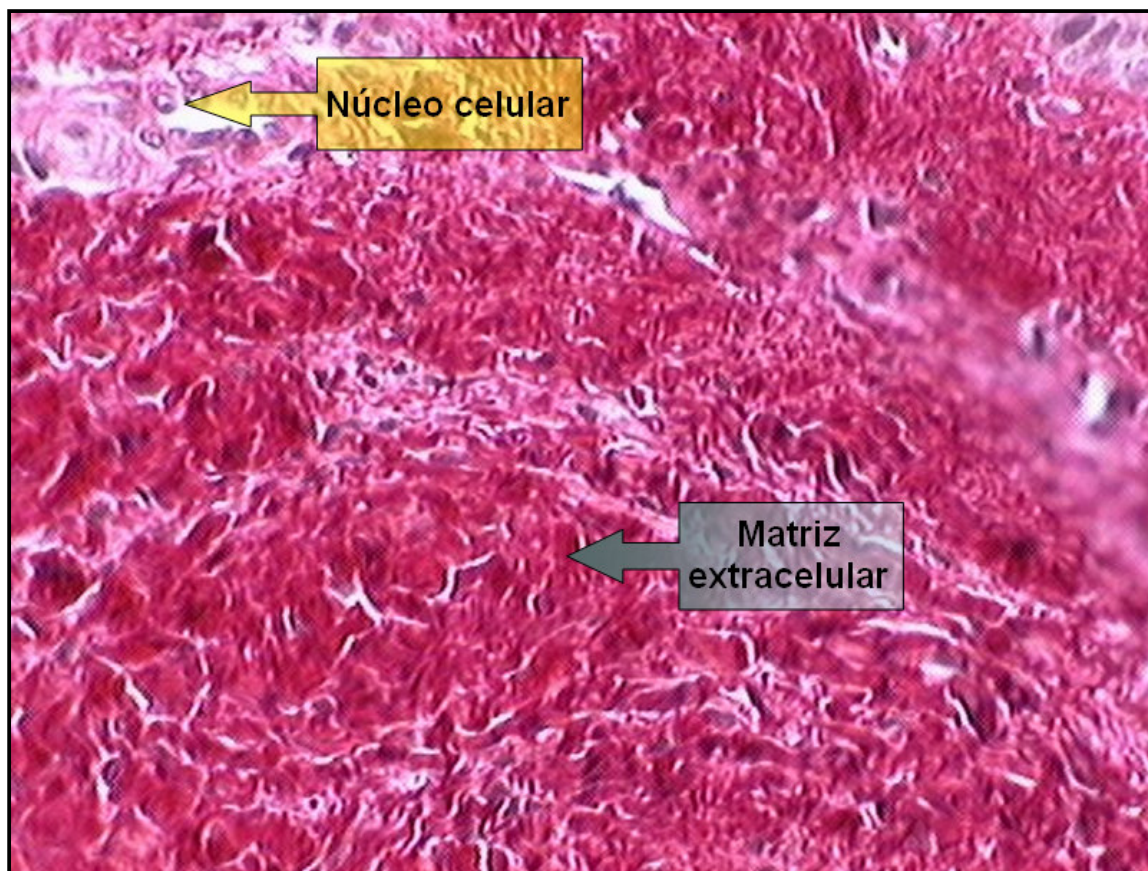
FIGURA 18 – LÂMINA CORADA PELO *PICROSIRIUS RED* ANTES DA POLARIZAÇÃO



Legenda: epitélio de revestimento (E) submucosa (SM)



FIGURA 19 – LÂMINA CORADA PELO *PICROSIRIUS RED* DEMONSTRANDO O TECIDO CONJUNTIVO DA SUBMUCOSA ANTES DA POLARIZAÇÃO



Nota: não se observa distinção entre os elementos da matriz extracelular

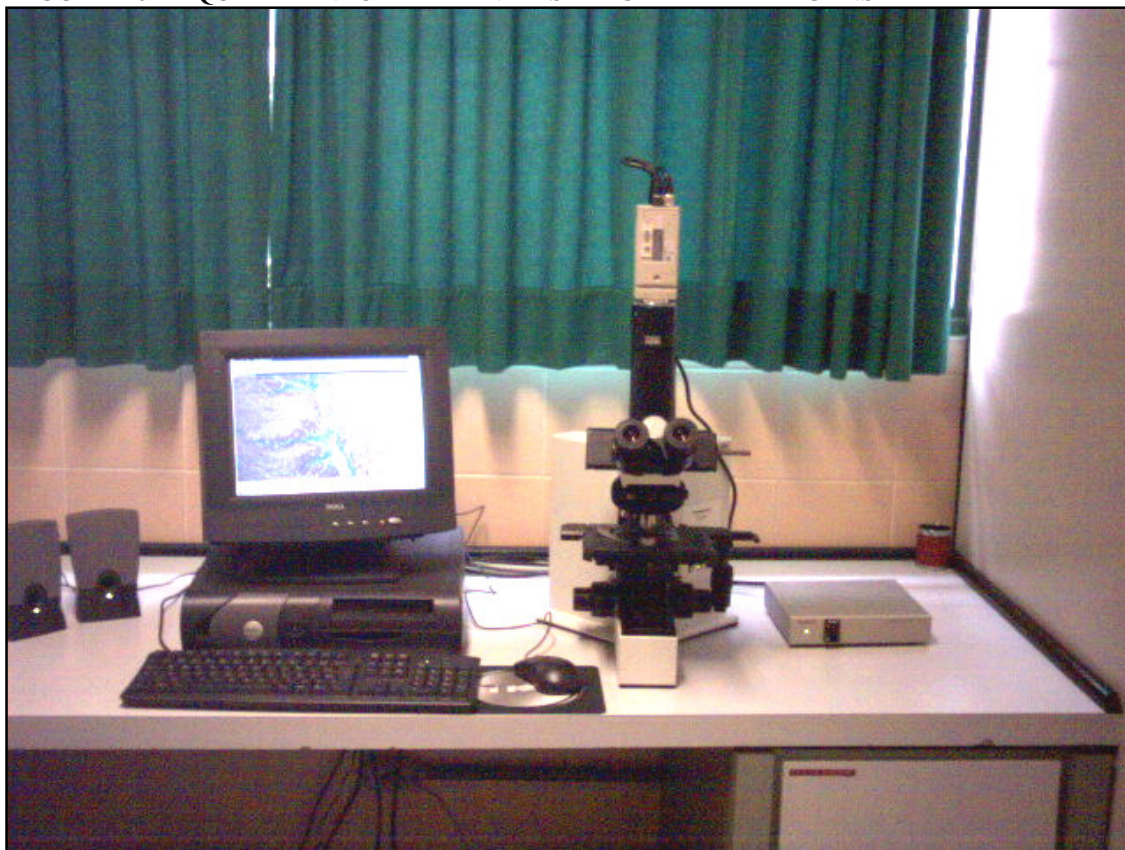
### 3.10 Análise histológica quantitativa morfométrica

A leitura das lâminas foi realizada através do programa *Pro-image-plus 4.5*<sup>®</sup> para *Windows*<sup>®</sup> em computador *Pentium IV*<sup>®</sup> acoplado ao microscópio *Olympus*<sup>®</sup> BX50 e câmera de vídeo *Sony*<sup>®</sup> (figura 20), calibrado previamente em micrômetros com objetiva de 20 vezes. O programa fez a leitura de tecidos corados com *Picrosirius Red*, analisando primeiramente a espessura da submucosa e a seguir a característica microscópica do tecido. Após com um comando no sistema *Pro-image-plus 4.5*<sup>®</sup>, ocorreu a polarização da imagem para leitura do depósito de colágeno feita através das cores do tecido.

Foi medida a fibroplasia, que é a deposição do colágeno pelo processo de cicatrização, na submucosa da PV (camadas intermediária e profunda da LP), sendo aferida em micrômetros quadrados ( $\mu\text{m}^2$ ).

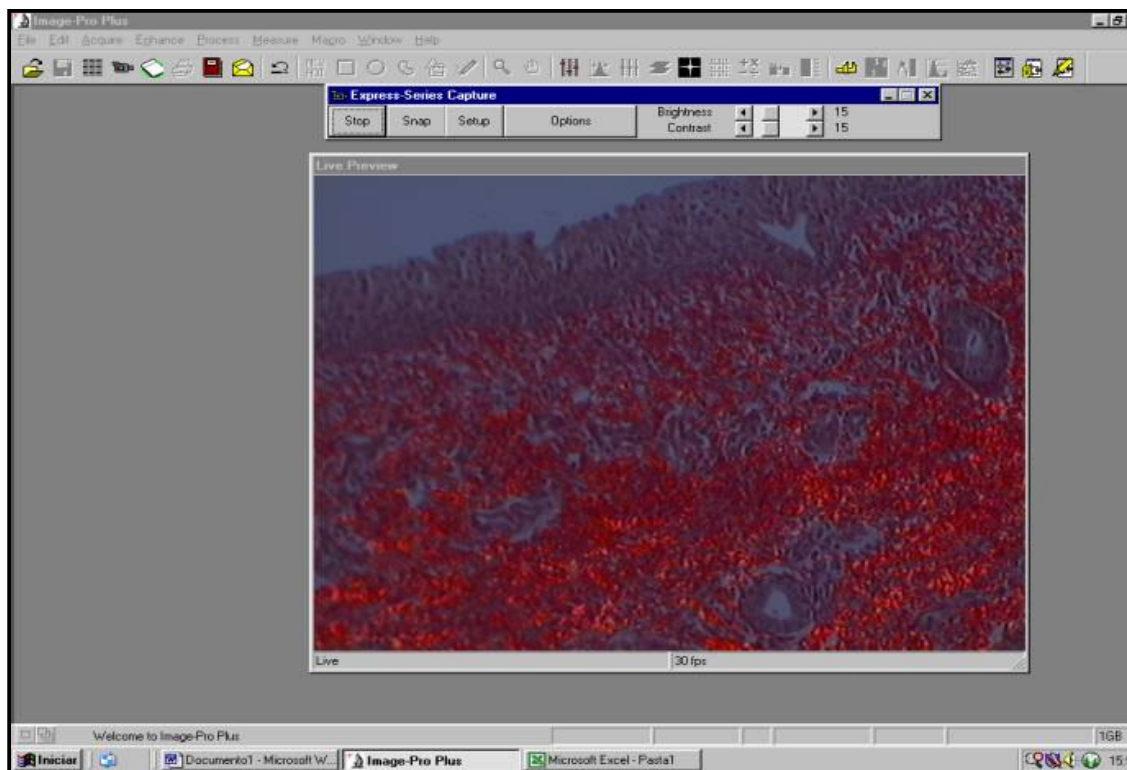
Essa medida foi realizada manualmente, a partir da visibilização na tela do computador, da lâmina corada pelo *Picrosirius Red* com microscópio em aumento com objetiva 20 (figura 21). Determinou-se com movimentos do *mouse*, uma área da mucosa a ser estudada em dois locais distintos. A seguir, através do programa *Pro-image-plus 4.5*<sup>®</sup> interligado ao microscópio, foi realizada a polarização da imagem (figura 22), sendo que toda a substância não-colágeno foi corada em preto, e o colágeno foi corado em amarelo, vermelho-alaranjado e vermelho. Estas cores foram automaticamente selecionadas pelo programa *Pro-image-plus 4.5*<sup>®</sup>, realizando-se a quantificação e a somatória da área em  $\mu\text{m}^2$ .

FIGURA 20 – EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS



Nota: Computador Pentium IV<sup>®</sup> acoplado ao microscópio Olympus<sup>®</sup> BX50

FIGURA 21 – DIGITALIZAÇÃO DE LÂMINA CORADA POR *PICROSIRIUS RED* ANTES DA POLARIZAÇÃO



Nota: esta lâmina demonstra a região da submucosa da PV antes da polarização, não havendo distinção entre os elementos celulares e o tecido conjuntivo

Após desfeita a randomização, os dados foram transportados para o programa *Excel Windows*® e colocados em forma de tabela para análise estatística (figura 23). A área de colágeno total na PV esquerda de cada animal foi obtida através de duas medidas, seguidas pela obtenção da média simples. Posteriormente esses dados foram somados, obtendo-se a soma total do colágeno em cada grupo.



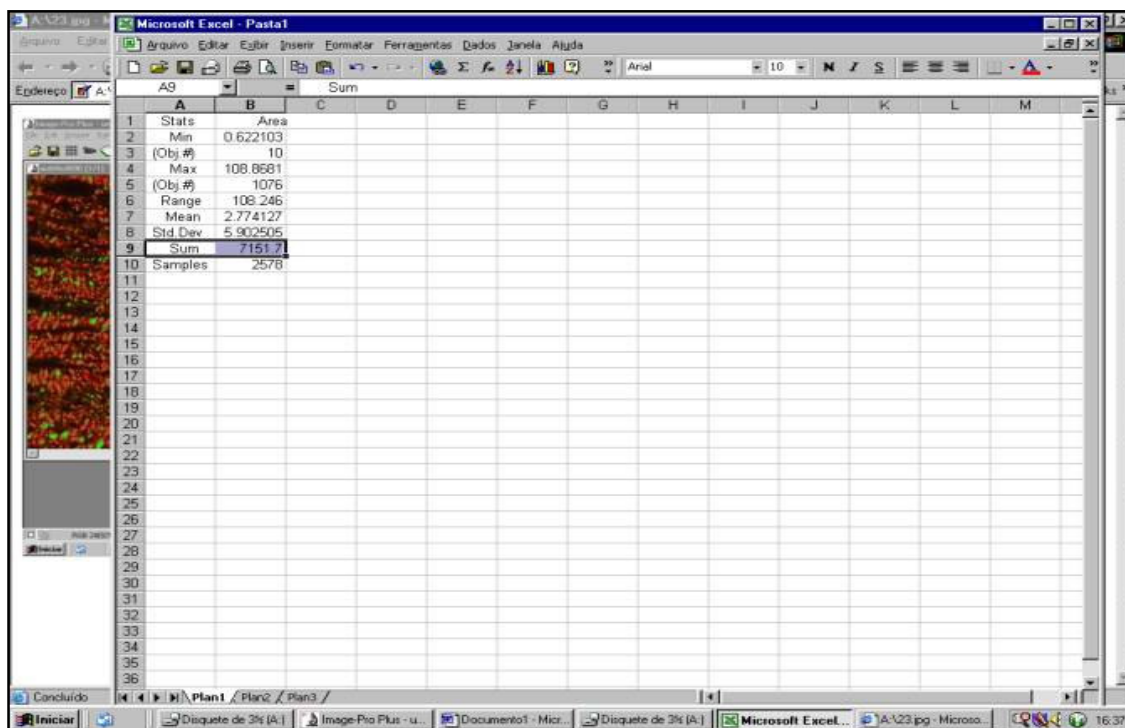
FIGURA 22 – LÂMINA CORADA PELO *PICROSIRIUS RED* APÓS A POLARIZAÇÃO



Nota: aspecto birrefringente do colágeno maduro com coloração laranja avermelhado. Substância não colágena de coloração enegrecida



FIGURA 23 – TRANSPORTE DOS DADOS DA SOMATÓRIA DA ÁREA POLARIZADA PARA A PLANILHA DO PROGRAMA EXCEL WINDOWS®



### 3.11 Análise estatística

Neste estudo foram considerados dois grupos, sendo cada um deles composto por 6 suínos. No GC foi realizada cirurgia a *laser* de CO<sub>2</sub> na PV esquerda com injeção prévia de Solução Salina. O GE foi submetido à cirurgia a *laser* de CO<sub>2</sub> com injeção prévia de Solução de Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml.

A variável avaliada neste estudo foi a deposição do colágeno total na submucosa de PV esquerda de suínos, entre o GC e o GE, sendo realizada comparações não pareadas através do teste não-paramétrico de *Mann-Whitney*. Em todas as comparações efetuadas, a hipótese nula correspondeu a resultados iguais nos grupos sob comparação e a hipótese alternativa a resultados diferentes, tendo como valor de  $p \leq 0,05$  o limite de significância estatística (SIEGEL, 1956).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Presença de sinéquias

Macroscopicamente, as PVs encontravam-se íntegras, com coloração fisiológica e não apresentavam sinéquias em nenhum dos grupos estudados.

### 4.2 Espessura da submucosa

No GC (animais submetidos à aplicação de Solução Fisiológica intracordal previamente ao uso de *laser*), a média da medida da espessura da submucosa das PVs de cada animal na região de exérese foi de 816,04  $\mu\text{m}$ , e no GE (animais submetidos à aplicação de Dexametasona intracordal previamente ao uso de *laser*), a média foi 844,77  $\mu\text{m}$  (tabela 4).

TABELA 4 – MÉDIA DA ESPESSURA DA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA

Grupos	Espessura média da submucosa ( $\mu\text{m}$ )
Controle	816,04
Experimento	844,77

### 4.3 Quantificação da deposição do colágeno

No GC, a média da área do colágeno depositado na submucosa das PVs esquerdas foi de 2496,36  $\mu\text{m}^2$ . No GE, a média da área do colágeno depositado na submucosa das PV esquerdas foi de 2167,92  $\mu\text{m}^2$  (tabelas 5 e 6) (gráfico 1).

TABELA 5 – ÁREA DE COLÁGENO TOTAL NA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA EM CADA ANIMAL

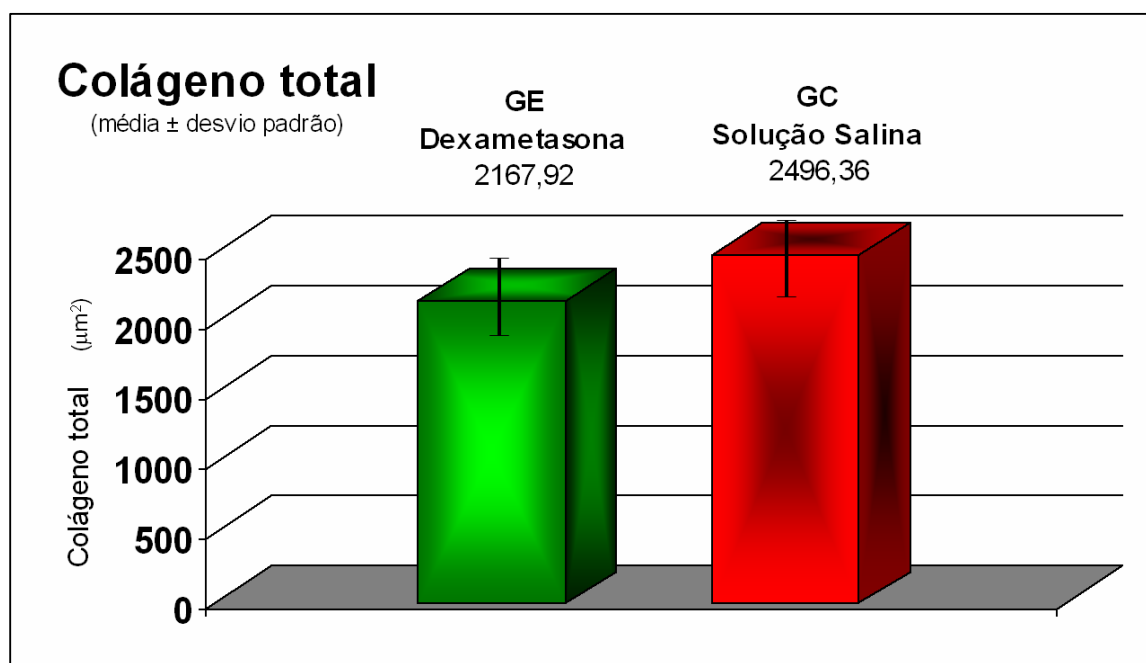
<b>Grupo Controle</b>	
Suínos	Área de colágeno ( $\mu\text{m}^2$ )
PORCO 1	2554,00
PORCO 2	2516,67
PORCO 3	2404,73
PORCO 4	2560,15
PORCO 5	2642,24
PORCO 6	2300,37
<b>TOTAL</b>	<b>14978,16</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>2496,36</b>
<b>Grupo Experimento</b>	
PORCO 1	2183,60
PORCO 2	2350,84
PORCO 3	2276,00
PORCO 4	1885,56
PORCO 5	2127,32
PORCO 6	2184,19
<b>TOTAL</b>	<b>13007,53</b>
<b>MÉDIA</b>	<b>2167,92</b>

TABELA 6 – MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO E MÁXIMO DA ÁREA DE COLÁGENO TOTAL NA SUBMUCOSA DA PREGA VOCAL NA REGIÃO OPERADA

<b>Grupo</b>	<b>n</b>	<b>Média</b> ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Mediana</b> ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Mínimo</b> ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>Máximo</b> ( $\mu\text{m}^2$ )	<b>DP</b>
Controle	6	2496,36	2535,34	2300,37	2642,25	123,20
Experimento	6	2167,92	2183,90	1885,56	2350,84	159,39

Legenda: n – número de animais, DP – desvio-padrão,  $\mu\text{m}^2$  – micrômetros quadrados

GRÁFICO 1 – COMPARAÇÃO DA MÉDIA DO COLÁGENO TOTAL ENTRE GE E GC

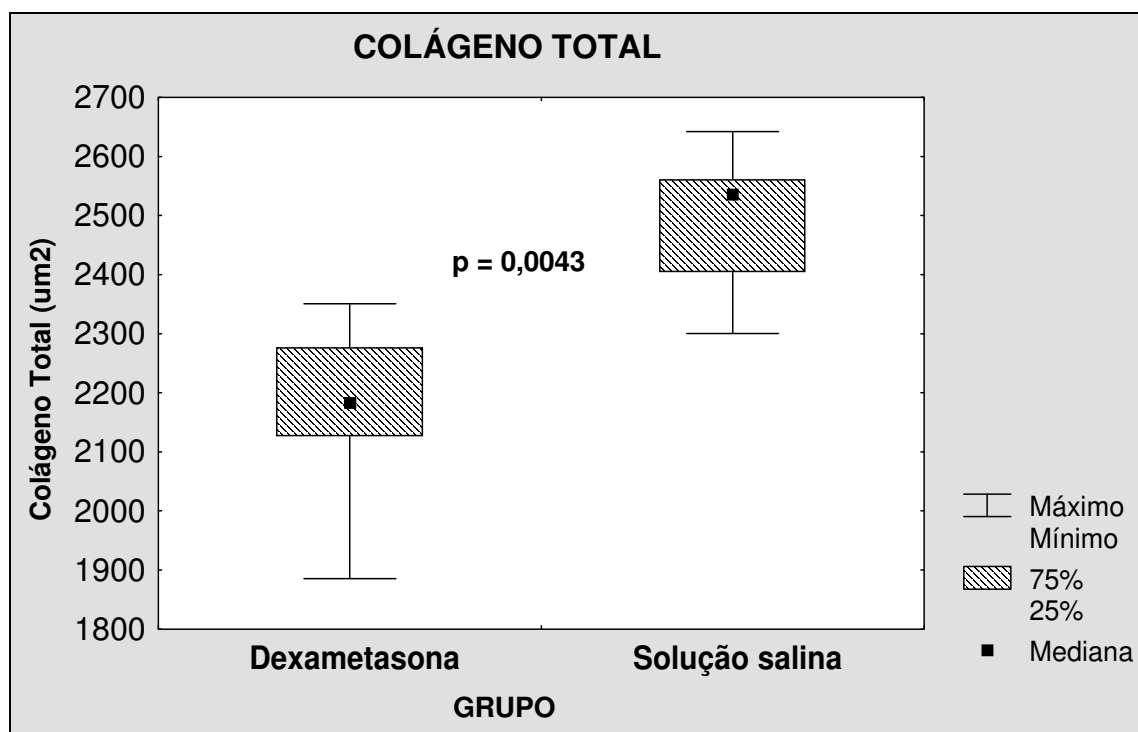


Legenda: GE – grupo experimento, GC – grupo controle

#### 4.4 Análise estatística

Testou-se a hipótese nula de que os resultados de colágeno total são iguais nos GC e GE, *versus* a hipótese alternativa de resultados diferentes. O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ( $p=0,0043$ ). Desta forma, pode-se afirmar que existe diferença estatisticamente significativa entre os GC e GE em relação aos resultados de colágeno total (gráfico 2).

GRÁFICO 2 – MEDIANA, VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS DO COLÁGENO TOTAL DE ACORDO COM O GRUPO DO ESTUDO, DEMONSTRANDO DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE



Legenda:  $p$  = nível de significância

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Escolha do modelo experimental

GARRETT, COLEMAN e REINISCH (2000) realizaram experimento comparando a histologia e as implicações da cirurgia microlaríngea (*microflap*), observando a quantidade da deposição de colágeno, fibras de elastina e substância fundamental amorfa. O experimento comparou laringes de três animais de médio porte (cão, macaco e porco) com laringes humanas. Concluíram que as PVS do porco e do cão apresentam quantidade de fibras elásticas e colágenas nas camadas profundas da LP, equivalentes, porém em menor concentração que a humana. Concluíram também que as PVs do porco e cão apresentam plano de dissecação cirúrgico semelhante ao do homem. No presente estudo, pela conveniência técnica (docilidade e fácil trato), bem como pela maior facilidade na sua aquisição na Fazenda Experimental da UFPR, os animais escolhidos foram os suínos (raça *Larger White*).

Após a indução da anestesia, as vias de acesso venosas foram conseguidas facilmente na orelha ou na pele do ventre do animal. A anestesia necessitou manter respiração espontânea, com pouca salivação para a realização do procedimento cirúrgico, e por este motivo foram utilizadas midazolan, acepromazina, ketamina e atropina, sendo a manutenção da anestesia realizada com propofol. Quando o animal apresentava depressão respiratória (observada pela diminuição dos movimentos respiratórios ou através da alteração da coloração da mucosa) um catéter era introduzido nas narinas oferecendo oxigênio a 5 litros por minuto até a regularização da respiração. Não houve óbito de nenhum animal durante o experimento.

## 5.2 Fonomicrocirurgia laríngea à *laser* de CO<sub>2</sub>

Nas últimas décadas, inovações tecnológicas levaram a melhora substancial na técnica da microcirurgia laríngea. Estas inovações resultaram da evolução da compreensão dos princípios fisiológicos da produção sonora laríngea e do uso do estroboscópio para análise das oscilações da PV (HIRANO, 1993). O termo fonomicrocirurgia foi introduzido em 1995 por ZEITELS (2000), buscando salientar a necessidade de melhor precisão cirúrgica, a fim de preservar ao máximo as camadas da microestrutura da PV, aliando-se à crescente importância da voz em nossa sociedade.

A escolha da técnica cirúrgica com o *laser* de CO<sub>2</sub> foi baseada em estudos de STRONG e JAKO (1972), que a empregaram no tratamento de papilomatose laríngea e nas lesões malignas em estágios iniciais. Atualmente suas indicações têm aumentado significativamente com a evolução tecnológica desenvolvida nos últimos anos, como a diminuição do *microspot* e o uso do superpulso, minimizando, conseqüentemente, o dano termal sobre os tecidos vizinhos (SANTOS et al., 2003).

BENNINGER, ALESSI e ARCHER (1996), compararam as técnicas “frias” com a técnica a *laser* de CO<sub>2</sub>, na ressecção de nódulos, pólipos e cistos nos bordos livres das PVS, e concluíram que não há diferença clínica nos resultados pós-operatórios obtidos, utilizando-se uma ou outra técnica. No entanto, SANTOS et al. (2003) compararam incisões em PVS caninas realizadas com instrumento a frio e com *laser* de CO<sub>2</sub> avaliando, através de cortes histológicos, a quantidade de fibroplasia. Os resultados mostraram que a quantidade de colágeno das PVS foi maior no grupo de animais submetidos à lesão com instrumental a frio do que com *laser* de CO<sub>2</sub>. Portanto, o *laser* de CO<sub>2</sub>, quando usado em baixa potência com *microspot* e com superpulso, é um método seguro em relação à deposição de colágeno quando comparado a instrumentos com lâmina a frio, evidentemente obedecendo-se os princípios fundamentais da fonomicrocirurgia.

### 5.3 Método de coloração e quantificação da deposição do colágeno

Independentemente do tecido lesado, o colágeno é, do ponto de vista funcional, o componente mais importante na reparação de tecidos. As proteínas da família do colágeno são as maiores componentes da matriz extracelular, e representam aproximadamente 25% da proteína corporal total (ANJOS; ALVARES-SILVA; BORELLI, 2000; ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; HAYASHI ; MIZUNO, 2006; PEREIRA, 2006).

Durante o processo de reparação tecidual, o tecido de granulação vai sendo enriquecido com fibras de colágeno, sendo que por volta de duas semanas pós-lesão, as fibras colágenas passam a predominar na matriz extracelular, sobretudo as fibras do tipo I, mais espessas, que prevalecem em relação à do tipo III, mais finas, conferindo a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz (ROCHA, 2004; TRUBIAN, 2004; PEREIRA, 2006).

A quantificação morfométrica computadorizada através da soma da área corada pelo *Picrosirius Red* após polarização é um método bem estabelecido pela literatura para avaliação da quantidade de deposição de colágeno em estudos que visam à avaliação da cicatrização (SANTOS et al., 2003; RIBEIRO et al., 2004).

Nesse trabalho, para a identificação e quantificação da deposição do colágeno, preferiu-se a utilização da coloração de *Picrosirius Red* associada à microscopia de polarização, pois este método, além de ser específico, pode diferenciar as fases de maturação das fibras de colágeno após a polarização, corando em verde e amarelo-esverdeado as fibras mais jovens e em laranja e vermelho as fibras mais antigas (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; SZENDRŐI et al., 1984; RABAU; DAYAN, 1994; HIRSHBERG; BUCHNER; DAYAN, 1996; HIRSHBERG et al., 1999). Esta característica da coloração de *Picrosirius Red* pode proporcionar estudos futuros quanto à maturação da deposição do colágeno nas feridas de PVs de porcos com aplicação de corticóide injetado na PV.

No presente estudo a coloração de *Picrosirius Red* foi efetiva na diferenciação e quantificação do colágeno, o que corrobora o exposto por JUNQUEIRA;



BIGNOLAS e BRENTANI (1979), SZENDRŐI et al. (1984), RABAU e DAYAN (1994), HIRSHBERG; BUCHNER e DAYAN (1996) e HIRSHBERG et al. (1999).

#### 5.4 Uso de corticóide em pregas vocais

O uso de corticóides sistêmicos e injetados nas PVs vem sendo sugerido como tratamento adjuvante à cirurgia, reduzindo o processo cicatricial (GAUCI; DALE; BALOW, 1976). BOUCHAYER e CORNUT (1988) relataram a melhora no fechamento glótico e qualidade vocal após a realização de injeção de corticóides seguido imediatamente do *microflap* em PV. TATEYA et al. (2003 e 2004) avaliaram o corticóide injetado na LP da PV, e demonstraram o efeito benéfico com melhora da qualidade vocal e diminuição do tempo de fonoterapia em lesões fonotraumáticas, como nódulos vocais e edema de *Reinke*.

No entanto, COLEMAN, SMITH e REINISCH (1999) em modelo canino e ALENCAR (2005), em modelo suíno, em estudos experimentais com a injeção de corticosteróides antes da realização de *microflap*, concluíram que, apesar dos corticóides provocarem um atraso no processo de cicatrização tanto no infiltrado inflamatório como na neovascularização, não houve melhora quantitativa estatisticamente significativa em relação à deposição colágena.

Na literatura atual, não foram encontrados estudos relacionando o uso prévio de corticoterapia intracordal associado ao procedimento fonomicrocirúrgico utilizando-se *laser*.

Esse estudo demonstrou a diminuição da fibroplasia na submucosa (porções intermediária e profunda da LP) de PVs suínas submetidas a exérese de fragmento mucoso com *laser* de CO<sub>2</sub>, quando do uso prévio de Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml de forma intracordal, em comparação ao grupo controle. Esse fato sugere uma diminuição na fibrose submucosa, que pode se refletir na preservação da flexibilidade da microestrutura glótica, e, portanto em melhor resultado fonatório.

## 6 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos neste modelo experimental, pode-se concluir que a aplicação intracordal de Fosfato Dissódico de Dexametasona 10 mg/ml, em prega vocal suína, previamente à exérese de fragmento de mucosa com *laser* de CO<sub>2</sub>, resulta após 30 dias em:

- 1) Ausência de sinéquias pós-operatórias.
- 2) Diminuição da área total de colágeno na PV em comparação ao grupo controle.

## REFERÊNCIAS

ABITBOL, J. **Atlas of Laser Voice Surgery**. Singular. San Diego, 1995, 1-21.

ABRAHAMSON, D.R. Recent Studies on the Structure and Pathology of Basement Membranes. **J Pathol.**, v. 149, n. 4, p. 257-78, aug. 1986.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Dexametasona. **Bulário eletrônico da Anvisa**. Disponível em <  
[http://bulario.bvs.br/index.php?action=search.2004080216222460659463000191](http://bulario.bvs.br/index.php?action=search.2004080216222460659463000191&mode=dir&letter=D&PHPSESSID=b9284d7a96bc1acf070b1f5965911ed4)  
 &mode=dir&letter=D&PHPSESSID=b9284d7a96bc1acf070b1f5965911ed4  
 > Acesso em: 15 dez. 2006.

ALENCAR, B.L.F. **Avaliação de sinéquias pós-operatórias e quantificação do colágeno em pregas vocais de suínos após exérese de fragmentos de mucosa com instrumento frio e uso de corticóide injetado na prega vocal**. Curitiba, 2005. 42 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Instituto de Pesquisa Médicas, Hospital Universitário Evangélico de Curitiba da Faculdade Evangélica do Paraná.

ANJOS, A.R. dos; ALVARES-SILVA, M.; BORELLI, P. Leukemia and extracellular matrix. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 22, n. 3, p. 404-12, 2000.

ARANTES, A.; GUSMÃO, S.; RUBINSTEIN, F.; OLIVEIRA, R. Anatomia microcirúrgica do nervo Laríngeo recorrente: aplicações no acesso cirúrgico anterior à coluna cervical. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 62, n. 3-A, p. 707-10, 2004.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Cienc. Farm**, v. 41, n. 1, p. 27-51, jan./mar. 2005.

BENNINGER, M.S.; ALESSI, D.; ARCHER, S. Vocal fold scarring: Current concepts and management. **Otolaryngol Head Neck Surg.**, v. 115, n. 5, p. 474-82, nov. 1996.

BRUNETAUD, J.M.; DECOMPS, B. **Les laser en medicine. La Recherche**, v. 13, p. 1122-1129, 1982.

BOUCHAYER, M.; CORNUT, G. Microsurgery for benign lesions of the vocal folds. **Ear Nose Throat J**, v. 67, n. 6, p. 446-66, 1988.

CAMARGO, P.A.M; RISPOLI, D.Z; PEREIRA, M.C. **Cirurgia para elevar o “Pitch” vocal**. In: CAMPOS, C.A.H. de; COSTA, H.O.L. (Ed.). Tratado de

otorrinolaringologia. São Paulo SP: Roca, 2003. p. 427-33.

CAMARGO, P.A.M.; CAMPOS, A.C.L.; MATIAS, J.E.F.; RISPOLI, D.Z.; PRZYSIEZNY, P.E.; FONSECA, V.R. Efeito da mitomicina C tópica na cicatrização de prega vocal em modelo suíno. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 72, n. 5, p. 601-4, mar./abr. 2006.

CAMPOS, G. Endoscolpia laringotraqueal. **Acta Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello**, v. 28, n. 1, p. 47-56, mar. 2000.

CAPRA, F. **O Tao da Física**. São Paulo: Cultrix, 1995. p. 227-29.

CASTRO, S.V. de. Esplancnologia. In: \_\_\_\_\_. **Anatomia fundamental**. 2ª ed. McGraw-Hill, 1980. p. 427-556.

CHAPMAN, C; TURK, J.R. **Picrosirius Red Staining Procedure**. Jul. 2004. Disponível em  
<[http://www.cvm.missouri.edu/vmdl/vmdl\\_histo\\_sop/VMDL%20special%20stain%20SOP%20updates/Collagen\\_Picrosirius\\_Red.htm](http://www.cvm.missouri.edu/vmdl/vmdl_histo_sop/VMDL%20special%20stain%20SOP%20updates/Collagen_Picrosirius_Red.htm)> Acesso em 14 de dez. 2006.

CLOSE, B.; BANISTER, K.; BAUMANS, V., BERNOTH, E.; BROMAGE, N.; BUNYAN, J.; ERHARDT, W.; FLECKNELL, P.; GREGORY, N.; HACKBARTH, H.; MORTON, D.; WARWICK, C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: part 2. **Laboratory Animals**, v. 31, n. 1, p.1-32, 1997.

C.O.B.E.A. (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) - **Princípios éticos na experimentação animal**. In: Congresso do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, São Paulo, 1991.

COLEMAN, J.R. Jr.; SMITH, S.; REINISCH, L. Histomorphometric and laryngeal videostroboscopic analysis of the effects of corticosteroids on microflap healing in the dog larynx. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, v. 108, n. 2, p. 119-27, 1999.

CONSTANTINE, V.S.; MOWRY, R.W. Selective staining of human dermal collagen II: the use of Picrosirius Red F3BA with polarization microscopy. **J Invest Dermatol.**, v. 50, n.5, p. 419- 23, may. 1968.

COUREY, M.S.; GARDNER, G.M.; STONE, R.E.; OSSOFF, R.H. Endoscopic vocal fold microflap: a three-year experience. **Ann Otol Rhino Laryngol.**, v. 104, p. 267-73, apr. 1995.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Inflammation and repair. In: \_\_\_\_.

**Robbis - Pathologic basis of disease.** 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p. 51-92.

DICKE, R.H.; WITTKE, J.P. **Introduction to Quantum Mechanics.** Londres, Addison-Wesley, 1960.

DI FIORE, M.S.H.; MANCINI, R.E.; DE ROBERTIS, E.D.P. **Atlante di Istologia. Microscopica ottica, istochimica e microscopia elettronica.** Bologna, Nicola Zanichelli S.p.A., 1974.

ELIASHAR, R.; ELIACHAR, I.; ESCLAMADO, R.; GRAMLICH, T.; STROME, M. Can topical mitomycin prevent laryngotracheal stenosis? **Laryngoscope**, v. 109, n. 10, p. 1594-600, oct.1999.

EMBRAPA. **Simulador da curva de crescimento de gompertz.** 2005. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/?idp=Pz7j49i9k>> Acesso em 10 jul. 2005.

GAUCI, A.S.; DALE, A.C.; BALOW, J.E. Glucocorticoid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. **Ann Intern Med**, v. 84, p. 304-20, 1976.

GARRETT, C.G.; COLEMAN, J.R.; REINISCH, L. Comparative Histology and Vibration of the Vocal Folds: Implications for Experimental Studies in Microlaryngeal Surgery. **Laryngoscope**, v. 110, n. 5, p. 814-24, May. 2000.

GARRET, C.G.; SOTO, J.; RIDDICK, J.; BILLANTE, C.R.; REINISCH, L. Effect of mitomycin-C on vocal fold healing in a canine model. **Ann Otol Rhinol Laryngol**, v. 110, n. 1, p. 25-30, jan. 2001.

GARRET, G.; REINISCH, L. New-generation pulse carbon dioxide laser: comparative effects on vocal fold wound healing. **Ann Otol rhinol Laryngol**, v. 111, p. 471-6, june 2002.

HAYASHI T, MIZUNO K. **Collagen.** Disponível em : <http://users.easystreet.com/kxm/eng/collagen.htm> Acesso em 14 dez. 2006.

HIRANO, M. Morphological structure of the vocal cord as vibrator and its variations. **Folia Phoniatr**, v. 26, n. 2, p.89-94, 1974.

HIRANO, M. Phonosurgical anatomy of the larynx. In: Ford CN & Bless DM. **Phonosurgery: assesment surgical management of voice disorders.** New York: Raven Press, 1991. p. 25-41.

HIRANO, M. Surgical anatomy and physiology of the vocal fold. In: GOULD, W.J.; SALATOFF, R.T.; SPIEGEL J.R. (Ed.). **Voice Surgery.** Chicago: Mosby:

Year Book, 1993. p. 125-58.

HIRSHBERG, A.; BUCHNER, A.; DAYAN, D. The central odontogenic fibroma and the hiperplastic dental follicle: study with picosirius red and polarizing microscopy. **J Oral Pathol Med**, v. 25, n. 3, p.125-7, 1996.

HIRSHBERG, A.; SHERMAN, S.; BUCHNER, A.; DAYAN, D. Collagen fibres in the wall of odontogenic keratocysts: a study with picosirius red and polarizing microscopy. **J Oral Pathology Med**, v. 28, n. 9, p.410-2, oct. 1999.

HUNGRIA, H. **Anatomia e fisiologia**. In: \_\_\_\_\_. Otorrinolaringologia. 7ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro RJ, 1995. p 157-60.

HUNT, T.K. Vitamin A and wound healing. **J Am Acad Dermatol**, v. 15, n. 4, p. 817-21, oct. 1986.

HUPP, J.R. Reparação de feridas. In: PETTERSON, L.J.; ELLIS III, E.; HUPP, J.R.; TUCKER, M.R. (Ed.). **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. Rio de Janeiro RJ: Guanabara Koogan, 2000. p. 57-67.

IMAMURA, R.; TSUJI, D.H.; SENNES, L.U. Fisiologia da laringe. In: CAMPOS, C.A.H. de; COSTA, H.O.L. (Ed.). **Tratado de otorrinolaringologia**. São Paulo SP: Roca, 2003. p. 751-67.

JUNQUEIRA, L.C.U.; COSSERMELLI, W.; BRENTANI, R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. **Arch. Histol. Jap**, v. 41, n. 3, p. 267-74, 1978.

JUNQUEIRA, L.C.U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Pricosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, v. 11, p. 447-55, 1979.

KLEPPNER D. Relendo Einstein sobre radiação. **Rev. Bras. Ens. Fis**, vol. 27, n. 1, p. 87-91, jan./mar. 2005.

LEBLOND, C.P.; INOUE, S. Structure, Composition, and Assembly of Basement Membrane. **Am J Anat.**, v. 185, n. 4, p. 367-90, aug. 1989.

MAAHS, G.S.; ALVES, S.C.B.; CHRISTINANE. KINDERMANN, C.; RÔMULO H. MARQUES, R.H. Insuficiência Respiratória Aguda e Edema de Reinke. **Rev Bras Otorrinolaringol.**, v. 64, n. 6, p. 644-6, nov./dez. 1998.

MACHADO, A. **Nervos cranianos**. In: \_\_\_\_\_. Neuroanatomia funcional. 2ª ed. Atheneu. São Paulo SP, 1993. p. 119-28.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S.  
Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **An bras Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-410, jul./ago. 2003.

MARTINS, A.P.Z. Embriologia e anatomia da laringe. In: CAMPOS, C.A.H. de; COSTA, H.O.L. (Ed.). **Tratado de otorrinolaringologia**. São Paulo SP: Roca, 2003. p. 743-50.

MELO, E.C.M.; LEMOS, M.; XIMENES FILHO, J.A.; SENNES, L.U.; NASCIMENTO, P.H.S.; TSUJI, D.H.. Distribution of collagen in the lamina própria of the human vocal fold. **Laryngoscope**, v. 113, n. 12, p.2187-91, dec. 2003.

MELO, E.C.M. Histologia e ultra-estrutura da prega vocal humana. **Revista Vox Brasilis**, ano 11, n. 11, p.13-18, fev. 2005. Disponível em:  
<<http://www.ablv.com.br/vox/VOX%2011%20-%20pdf.pdf>> Acesso em 11 dez. 2006.

MORGADO, P.F.; WAGNER, P.; NEVES, L.R., PONTES, P.A.L..  
Desenvolvimento de protótipo para aplicação do laser de CO<sub>2</sub> na laringe humana a curtas distâncias. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 68, n. 2, p. 203-7, mar./abr. 2002.

MOSHER, D.F.; FURCHT, L.T. Fibronectin: review of its structure possible functions. **J Invest Dermatol**, v. 77, n. 2, p. 175-80, aug.1981.

NEVES, B.M.J.; NETO, J.G.; PONTES, P. Diferenciação histopatológica e imunoistoquímica das alterações epiteliais no nódulo vocal em relação aos pólipos e ao edema de laringe. **Rev Bras Otorrinolaringol.**, v. 70, n.4, 439-48, jul./ago. 2004.

PASCHOAL, J.R. **Efeitos da radiação laser de baixa potência sobre tecido vivo**. Campinas, 1991. Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

PEARSON, B.W. **Anatomofisiologia**. In: LOPES FILHO, O.; CAMPOS, C.A.H. de. **Tratado de otorrinolaringologia**. São Paulo sp: Roca, 1994. p. 973-994.

PEREIRA, M.C. **Efeito da mitomicina-C tópica sobre os depósitos de colágenos total na submucosa das pregas vocais íntegras de suíno**. Curitiba, 2006. 62f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Departamento de Cirurgia / Universidade Federal do Paraná.

PICCINATO, C.E.; NETTO, J.C.; CHERRI, J. Cicatrização. In: CAMPOS, C.A.H. de; COSTA, H.O.L. (Ed.). **Tratado de otorrinolaringologia**. São Paulo

SP: Roca, 2003. p. 189-200.

PINTO, J.A. Procedimentos terapêuticos em laringologia. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 68, n. 5, p. 12-20, out. 2002.

RABAU, M.Y.; DAYAN, D. Polarization microscopy of picosirius red stained sections: a useful method for qualitative evaluation of intestinal wall collagen. **Histol Histopathol.**, v. 9, n. 3, p. 525-8, jul. 1994.

RIBEIRO, F.A.Q.; GUARALDO, L.; BORGES, J.P.; ZACCHI, F.F.S.; ECKLEY, C.A. Clinical and histological healing of surgical wounds treated with Mitomycin C. **Laryngoscope**, v. 114, n. 1, p.148-52, jan. 2004.

ROCHA, J.C.T. Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogênese. **RBPS**, v. 17, n. 1, p. 44-8, 2004.

ROSEN, C.A. Vocal Fold Scar Evaluation and Treatment. **Otolaryngol Clin of North Am.**, v. 33, n. 5, p. 1081-6, oct. 2000.

ROSENFELD, D.B.; MILLER, R.H.; SESSIONS, R.B.; PATTEN, B.M. Morphologic and histochemical characteristics of laryngeal muscle. **Arch Otolaryngol**, v. 108, n. 10, p. 662-6, oct.1982.

SANTORO, P.P.; BOHADANA, S.C.; TSUJI, D.H. **Fisiologia da deglutição**. In: CAMPOS, C.A.H. de; COSTA, H.O.L. (Ed.). Tratado de otorrinolaringologia. São Paulo SP: Roca, 2003. p. 768-82.

SANTOS, F.C.C.; GRELET, M.; JUNIOR, A.R.; JAMUR, M.C.; PINTO, J.A.; FOMIM, D.S. Estudo comparativo histológico na prega vocal após incisão com instrumental a frio e com laser de CO<sub>2</sub> em modelo animal. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 69, n. 6, p. 753-9, nov/dez. 2003.

SHEPPARD, L.M.; WERKHAVEN, J.; MICKELSON, S.; CRISSMAN, J.D.; PETERSON, E.; JACOBSEN, G. Effect of steroids or precooling on edema and tissue thermal coagulation after CO<sub>2</sub> laser impact. **Lasers Surg Med**, v. 12, n. 2, p. 137-46, jan.1992.

SIEGEL, S. **Nonparametric statistic**. New York: McGraw-Hill, 1956. p. 67-87.

STRONG, M.S.; JAKO, G.J. Laser surgery in the larynx. Early clinical experience with continuous CO<sub>2</sub> laser. **Ann Otol Rhinol Laryngol**, v. 81, n. 6, p. 791-8, 1972.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H.; ROSENTHAL, S.I. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. **Arch. Pathol.**, v. 78, p. 69-72, 1964.



- SZENDRŐI, M.; VAJTA, G.; KOVÁCS, L.; SCHAFF, Z.; LAPIS, K.  
Polarization colours of collagen fibres: a sign of collagen production activity in fibrotic processes. **Acta Morphologica Hungarica**, v. 32, n. 1, p. 47-55, 1984.
- TATEYA, I.; OMORI, K.; KOJIMA, H.; HIRANO, S.; KANEKO, K. ITO, J.  
Steriod injection for Reinke`s edema using fiberoptic laryngeal surgery. **Acta Otolaryngol.**, v. 123, n. 3, p. 417-20, apr. 2003.
- TATEYA, I.; OMORI, K.; KOJIMA, H.; HIRANO, S.; KANEKO, K. ITO, J.  
Steroid injection to vocal nodules using fiberoptic laryngeal surgery under topical anesthesia. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol.**, v. 261, n. 9, p. 489-92, oct. 2004.
- THOMÉ, R. Microcirurgia Laríngea. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 40, n. 2, p. 187-93, maio/dez. 1974.
- TRUBIAN, P.S. **Influência do octreotide na cicatrização de sutura gástrica em ratos: estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno.** Curitiba, 2004. 79f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Departamento de Cirurgia / Universidade Federal do Paraná.
- VARELA, DG; GRELLET, M. Histologia da camada superficial da lâmina própria da prega vocal ao se aplicar retalho pediculado de mucosa: estudo experimental em cães. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, v. 71, n. 3, p. 318-24, maio/jun. 2005.
- WOO, P.; CASPER, J.; COLTON, R.; BREWER, D. Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. **Laryngoscope**, v. 104, n. 9, p. 1084-91, sept. 1994.
- WATANABE, I.S. O uso do laser na cirurgia experimental. **Jornal da USP**, São Paulo SP, 13 a 19 set. 1999. Disponível em <  
[http://www.usp.br/jorusp/arquivo/1999/jusp486/manchet/rep\\_res/rep\\_int/pesqui4.html](http://www.usp.br/jorusp/arquivo/1999/jusp486/manchet/rep_res/rep_int/pesqui4.html) > Acesso em: 15 dez. 2006.
- ZEITELS, S.M. Phonomicrosurgery I: Principles and equipment. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v. 3, n. 5, p. 1047-1062, Oct. 2000

## DOCUMENTOS CONSULTADOS

DECS (descritores em ciências da saúde). **Biblioteca virtual**. Disponível em: <http://decs.bvs.br/>. Acesso em: 15 dez. 2006.

OXFORD. **Advanced Learner's Dictionary**. 6<sup>th</sup> ed. Oxford University, 2000. p. 1600.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de documentos científicos**. Curitiba: Editora da UFPR, v.10, 2001.

## **ANEXO – CLASSIFICAÇÃO DO COLÁGENO**

Classification of collagen									
Type	Class	alpha chain gene	Chromosome	Length of collagenous domains (human)	chain composition	Main distribution	Supramolecular assembly	other name	Genetic Disease
I	fibrillar	1(I) COL1A1	17q21.3-q22	1014	112	ubiquitous	major component of fibrils	Kadler, 1995; Bachinger et al., 1993	Osteogenesis imperfecta, osteoporosis, Ehlers-Danlos syndrome (EDS) types VIIA, VIIB
II	fibrillar	2(II) COL1A2	7q22.1	1014	111	hyaline cartilage	major component of fibrils	Eyre, 2002	some types of chondrodysplasias
III	fibrillar	1(III) COL3A1	2q31	1029	111	same as type I, little in bone and tendon	minor component of fibrils	Kadler, 1995; EDS IV, aortic aneurysms	
IV	basement membrane	1(IV) COL4A1	13q34	1398	112, 345, 556?	basement membrane, sinusoid	polygonal meshwork	Sado et al., 1998; Adachi et al., 1997; Goodpasture's syndrome	Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome
V	fibrillar	1(V) COL5A1	9q34.2-q34.3	1014	112, 123, 111?	ubiquitous, minor component of collagen fibril, abundant near basement membrane, thin fibrils	minor component of fibrils	Fichard et al., 1995; Fessler and Fessler, 1987	EDS I & II
VI		2(VI) COL6A2	2q31	1014					
		3(VI) COL6A3	19q13.2	1011					
		1(VI) COL6A1	21q22.3	336	123	ubiquitous	beaded filaments	Richard-Blum et al., 2000; Lamande et al., 2002	Bethlem myopathy
		2(VI) COL6A2	21q22.3	335					
		3(VI) COL6A3	2q37	336					

VII	anchoring fibrils	1(VII)	COL7A1	3p21.3	1500	111	dermal epidermal junction	anti-parallel bundles (anchoring fibril)	Burgess 1993; Bachinger et al., 1990	dystrophic epidermolysis bullosa
VIII	short chain	1(VIII)	COL8A1	3q12-q13.1	454	111, 222, 112?	Descemet's membrane, blood vessels	fine fibrils	Muragaki et al., 1991; Yamaguchi et al., 1989; Yamaguchi et al., 1991	
		2(VIII)	COL8A2	1p34.3-p32.3	457					
IX	FACIT	1(IX)	COL9A1	6q13	115+339+137	123	cartilage	bound on collagen fibril surface	Eyre et al., 2001	multiple epiphyseal dysplasia
		2(IX)	COL9A2	1p33-32.2	115+339+137					
		3(IX)	COL9A3	20q13.3	112+339+137					
X	short chain	1(X)	COL10A1	6q21-q22.3	463	111	hypertrophic cartilage	fine fibrils	Richard-Blum et al., 2000	Schmid type metaphyseal dysplasia
XI	fibrillar	1(XI)	COL11A1	1p21	1014	123	hyaline cartilage	minor component of fibril	Eyre et al., 2001	Stickler syndrome
		2(XI)	COL11A2	6p21.3	1014					
		3(XI)=10(I)	COL2A1	12q13.11-q13.2	1017					
XII	FACIT	1(XII)	COL12A1	6q12-q13	103+152	111	type I collagen rich tissues	bound on collagen fibril surface	Richard-Blum et al., 2000	
XIII	transmembrane	1(XIII)	COL13A1	10q22	95+172+209					
XIV	FACIT	1(XIV)	COL14A1	8q23	106+149	111	type I collagen rich tissues	bound on collagen fibril surface	Richard-Blum et al., 2000	
XV	multiplexin	1(XV)	COL15A1	9q21-q22	577 db	111	basement membrane	The C-terminal 185 aa part is restin.	Muragaki et al., 1994	
XVI	FACIT-like	1(XVI)	COL16A1	1p34	106+422+15+52+136+71+59+34+131+27	111			Kasner et al., 2003	
XVII	transmembrane	1(XVII)	COL17A1	10q24.3	918 db	111	skin	hemidesmosome	Hirako et al., 1996; McGrath et al., 1995	Epidermolysis bullosa junctionalis mitis, generalized atrophic benign EB

<b>XXVIII</b>	multiplexin	1(XVIII)	COL18A1	21q22.3	688 dc	111	basement membrane		The C-terminal 183 aa part is endostatin.	Zetterstrom et al., 2000; Olsen & Ninomiya, 1999
<b>XXIX</b>	FACIT-like	1(XXIX)	COL19A1	6q12-q14	70+168+108+224+144 (832 dc)	111	brain, eye, testis; blood vessel, basement membrane			Sumiyoshi et al., 1997; Myers et al., 2003
<b>XX</b>	FACIT	1(XX)	COL20A1		103+155 (Chick)		unknown	bound on collagen fibril surface?		Koch et al., 2001
<b>XXI</b>	FACIT	1(XXI)	COL21A1	6p11.2-12.3	112+339		blood vessel			Fitzgerald & Bateman, 2001; Tuckwell 2002
<b>XXII</b>	FACIT	1(XXII)	COL22A1	8q24.3	10+339+234+374					
<b>XXIII</b>	transmembrane	1(XXIII)	COL23A1	5q35.3	18+75+111					Banyard et al., 2003
<b>XXIV</b>	fibrillar	1(XXIV)	COL24A1	1p22.3	931		developing cornea and bone			Koch et al., 2003
<b>XXV</b>	transmembrane	1(XXV)	COL25A1	4q25	44+238+189	111	brain		CLAC-P (collagen-like Alzheimer amyloid plaque component-precursor)	Hashimoto et al., 2002
<b>XXVI</b>		1(XXVI)	COL26A1	7q22.1	69+33		testis, ovary			Sato et al., 2002
<b>XXVII</b>	fibrillar	1(XXVII)	COL27A1	9q33.1	997					Pace et al., 2003; Bodt-Handford et al., 2003
	FACIT: fibril associated collagens with interrupted triple helices dc: discontinuous									

FONTE : HAYASHI; MIZUNO, 2006